



CLÁUDIO DANIEL  
MARTINS FRANCO

**MODELAÇÃO MATEMÁTICA DAS  
ESPÉCIES OXIDANTES E  
NITROSANTES EM SISTEMAS  
BIOLÓGICOS**

Relatório de Dissertação do Mestrado em  
Engenharia Biológica e Química - Processos  
Biotecnológicos

**ORIENTADOR**

Professor Doutor Gonçalo Justino

**COORIENTADORA**

Professora Doutora Raquel Barreira

Novembro de 2018



CLÁUDIO DANIEL  
MARTINS FRANCO

**MODELAÇÃO MATEMÁTICA DAS  
ESPÉCIES OXIDANTES E  
NITROSANTES EM SISTEMAS  
BIOLÓGICOS**

**JÚRI**

*Presidente:* Professora Doutora Lurdes Gameiro,  
ESTB/IPS

*Coorientadora:* Professora Doutora Raquel Barreira,  
ESTB/IPS

*Vogal:* Professora Doutora Marta Justino, ESTB/IPS

Novembro de 2018



## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao orientador Gonçalo Justino e à coorientadora Raquel Barreira por me terem dado apoio e orientação no desenvolvimento da dissertação e na análise dos dados da modelação, e também por me terem arranjado um local de acesso para realizar a dissertação. Também agradeço aos criadores do programa JWS Online que me permitiu formular a modelação das reações de várias espécies reativas ao mesmo tempo.



## RESUMO

As espécies reativas de oxigénio e azoto desempenham um papel importante em certas funções fisiológicas, como na inflamação, mas em situações de sobreprodução ou desregulação podem ter vários efeitos lesivos para as biomoléculas.

O objetivo foi construir um modelo matemático de equações diferenciais ordinárias (ODEs) que descrevesse a rede de reações químicas entre as diferentes espécies reativas e as biomoléculas. Para tal:

- a) foram recolhidas da literatura e utilizadas as constantes cinéticas das várias reações para escrever as equações cinéticas de todas as reações que constituíram o sistema estudado;
- b) com base nas várias equações cinéticas foram construídas as equações diferenciais que descreviam a evolução temporal de cada espécie química no sistema, recorrendo à abordagem do tipo *Continuously Stirred Batch Reactor* (CSBR);
- c) otimizou-se os parâmetros do modelo de modo a obter um sistema em estado estacionário que mimetizou as condições observadas na circulação sistémica;
- d) foi feita a análise do modelo com recurso à análise de fluxos e de coeficientes de controlo, que identificaram quais os principais pontos de controlo do sistema.

Com estes passos obteve-se um modelo matemático robusto que permitiu a simulação de situações fisiológicas como a desregulação dos sistemas de produção de espécies reativas ou o efeito de antioxidantes sobre o nível global de espécies reativas e sobre o nível de lesões induzidas às biomoléculas:

- As concentrações de estado estacionário das espécies tamponantes do sangue bem como da água, do hidrónio e do anião hidróxido mantiveram-se constantes em todas as variações;
- As variações do óxido nítrico e do superóxido ocorreram exatamente de acordo com o que se esperava;
- A variação da concentração do anião nitrato correspondeu à variação da concentração do peroxinitrito, indicando a composição do mesmo;
- Todas as espécies reativas tiveram a variação das suas concentrações como esperado em relação da variação das concentrações de estado estacionário dos antioxidantes.

Contudo, não foi possível obter um modelo que descreva adequadamente o sistema de tamponamento do sangue, tendo-se identificado a origem desse erro no excessivo detalhe utilizado para descrever essas reações.

**PALAVRAS-CHAVE:** espécies reativas de oxigénio, espécies reativas de azoto, modelação matemática, análise de controlo, modelo de ação de massas

## ABSTRACT

Reactive oxygen and nitrogen species play an important role in certain physiological functions, such as in inflammation, but in situations of overproduction or deregulation, they may have several detrimental effects on biomolecules.

The goal was to construct a mathematical model of ordinary differential equations (ODEs) that describes the network of chemical reactions between different reactive species and biomolecules. For such:

- a) they were collected from literature and kinetic constants of the various reactions were used to write the kinetic equations of all the reactions that constituted the studied system;
- b) based on the various kinetic equations the differential equations that described the temporal evolution of each chemical specie in the system were constructed, using the *Continuously Stirred Batch Reactor* (CSBR);
- c) the model parameters were optimized to obtain a steady-state system that mimicked the conditions observed in the systemic circulation;
- d) the analysis of the model using flow and control coefficients analysis was performed, which identified the main control points of the system.

These steps yielded a robust mathematical model that allowed the simulation of physiological situations such as the deregulation of reactive species production systems or the effect of antioxidants on the global level of reactive species and on the level of biomolecule induced lesions:

- Steady-state concentrations of the buffering species in the blood as well as water, hydronium and hydroxide anion remained constant in all variations;
- Changes of nitric oxide and superoxide went exactly according to what was expected;
- The variation of the concentration of the nitrate anion corresponded to the variation of the peroxynitrite concentration, indicating its composition;
- All reactive species had the variation of their concentrations as expected in relation to the variation of the steady-state concentrations of the antioxidants.

However, it was not possible to obtain a model that adequately describes the blood-buffering system, and the origin of this error was identified in the excessive detail used to describe these reactions.

**KEYWORDS:** reactive oxygen species, reactive nitrogen species, mathematical modelling, control analysis, mass action law model



## ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS.....	i
RESUMO .....	iii
ABSTRACT .....	iv
1. ENQUADRAMENTO TEÓRICO .....	1
1.1 CARACTERIZAÇÃO DAS ESPÉCIES OXIDANTES E NITROSANTES E AS SUAS REAÇÕES .....	1
1.1.1 ÓXIDO NÍTRICO (NO) .....	2
1.1.2 ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÉNIO (ROS) .....	3
1.1.3 ESPÉCIES REATIVAS DE AZOTO (RNS) .....	3
1.2 PAPEL DOS MODELOS MATEMÁTICOS EM STRESSES OXIDATIVOS E NITROSATIVOS .....	4
1.2.1 OS DIFERENTES MODELOS DA PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA .....	4
1.2.2 MODELOS CINÉTICOS .....	5
2. MÉTODOS .....	7
2.1 MODELAÇÃO DE REATORES CONTINUAMENTE AGITADOS .....	7
2.2 ANÁLISE DE CONTROLO METABÓLICO .....	8
2.2.1 COEFICIENTES DE CONTROLO .....	8
2.2.2 COEFICIENTE DE ELASTICIDADE .....	9
3. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DE RESULTADOS .....	11
3.1 MODELO SEM ANTIOXIDANTES - VARIAÇÃO INDIVIDUAL DE PARÂMETROS .....	11
3.1.1 VARIAÇÃO DAS CONDIÇÕES INICIAIS DE $\text{NO}^*$ E $\text{O}_2^{\bullet-}$ .....	11
3.1.1.1 Variação simultânea das concentrações iniciais de $\text{NO}^*$ e $\text{O}_2^{\bullet-}$ .....	11
3.1.1.2 Variação da concentração inicial de óxido nítrico .....	14
3.1.1.3 Variação da concentração inicial de radical anião superóxido .....	17
3.1.2 VARIAÇÃO DAS VELOCIDADES DE PRODUÇÃO E DE CONSUMO DO ANIÃO NITROPEROXICARBONATO .....	19
3.2 MODELO COMPLETO .....	22
3.2.1 ANÁLISE INICIAL DO SISTEMA NÃO PERTURBADO .....	22
3.2.2 VARIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INICIAL DE ÓXIDO NÍTRICO .....	23
3.2.3 VARIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INICIAL DE RADICAL ANIÃO SUPERÓXIDO .....	27

3.2.4	VARIAÇÃO DAS VELOCIDADES DE PRODUÇÃO E DE CONSUMO DO ANIÃO NITROSEPEROXOCARBONATO .....	31
3.2.5	VARIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INICIAL DO ANIÃO ASCORBATO.....	38
3.2.6	VARIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INICIAL DE TOCOFEROL.....	41
4.	CONCLUSÃO.....	47
5.	BIBLIOGRAFIA .....	49
	ANEXO .....	51

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Produção do óxido nítrico a partir do endotélio, permitindo assim a vasodilatação e consequentemente a congestão muscular ( <a href="https://www.masmusculo.com">https://www.masmusculo.com</a> ). ....	2
<b>Figura 2.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{CO}_2$ , $\text{CO}_3^{2-}$ , $\text{H}_2\text{CO}_3$ , $\text{H}_2\text{O}$ , $\text{H}_3\text{O}^+$ , $\text{HCO}_3^-$ e $\text{OH}^-$ em função da variação de $[\text{NO}^*]_0$ e de $[\text{O}_2^{*-}]_0$ .....	12
<b>Figura 3.</b> Sistema carbonato/hidrogenocarbonato de tamponização do sangue .....	12
<b>Figura 4.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{NO}^*$ e $\text{O}_2^{*-}$ em função da variação de $[\text{NO}^*]_0$ e de $[\text{O}_2^{*-}]_0$ .....	13
<b>Figura 5.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{CO}_3^{*-}$ , $\text{NO}_2^*$ , $\text{ONOO}^-$ e $\text{ONOOCO}_2^-$ em função da variação de $[\text{NO}^*]_0$ e de $[\text{O}_2^{*-}]_0$ .....	13
<b>Figura 6.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{H}_2\text{O}_2$ , $\text{HNO}_2$ , $\text{HO}_2^-$ , $\text{N}_2\text{O}_4$ , $\text{NO}_2^-$ , $\text{NO}_3^-$ , $\text{O}_2$ e $\text{O}_2\text{NOO}^-$ em função da variação de $[\text{NO}^*]_0$ e de $[\text{O}_2^{*-}]_0$ .....	14
<b>Figura 7.</b> Coeficientes de controlo das concentrações das várias espécies pela concentração inicial de $[\text{NO}^*]$ e de $[\text{O}_2^{*-}]$ .....	14
<b>Figura 8.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{CO}_2$ , $\text{CO}_3^{2-}$ , $\text{H}_2\text{CO}_3$ , $\text{H}_2\text{O}$ , $\text{H}_3\text{O}^+$ , $\text{HCO}_3^-$ e $\text{OH}^-$ em função da variação de $[\text{NO}^*]_0$ .....	15
<b>Figura 9.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{NO}^*$ e $\text{O}_2^{*-}$ em função da variação de $[\text{NO}^*]_0$ .....	15
<b>Figura 10.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{CO}_3^{*-}$ , $\text{NO}_2^*$ , $\text{ONOO}^-$ e $\text{ONOOCO}_2^-$ em função da variação de $[\text{NO}^*]_0$ .....	16
<b>Figura 11.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{H}_2\text{O}_2$ , $\text{HNO}_2$ , $\text{HO}_2^-$ , $\text{HO}_2^*$ , $\text{N}_2\text{O}_3$ , $\text{NO}_2^-$ , $\text{NO}_3^-$ , $\text{O}_2$ , $\text{O}_2\text{NOO}^-$ em função da variação de $[\text{NO}^*]_0$ .....	16
<b>Figura 12.</b> Coeficientes de controlo das concentrações das várias espécies pela concentração inicial de $[\text{NO}^*]$ .....	17
<b>Figura 13.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{CO}_2$ , $\text{CO}_3^{2-}$ , $\text{H}_2\text{CO}_3$ , $\text{H}_2\text{O}$ , $\text{H}_3\text{O}^+$ , $\text{HCO}_3^-$ e $\text{OH}^-$ em função da variação de $[\text{O}_2^{*-}]_0$ .....	17
<b>Figura 14.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{NO}^*$ e $\text{O}_2^{*-}$ em função da variação de $[\text{O}_2^{*-}]_0$ .....	17
<b>Figura 15.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{CO}_3^{*-}$ , $\text{NO}_2^*$ , $\text{ONOO}^-$ e $\text{ONOOCO}_2^-$ em função da variação de $[\text{O}_2^{*-}]_0$ .....	18
<b>Figura 16.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{H}_2\text{O}_2$ , $\text{HO}_2^-$ , $\text{HO}_2^*$ , $\text{NO}_2^-$ , $\text{NO}_3^-$ , $\text{O}_2$ , e $\text{O}_2\text{NOO}^-$ em função da variação de $[\text{O}_2^{*-}]_0$ .....	18
<b>Figura 17.</b> Coeficientes de controlo das concentrações das várias espécies pela concentração inicial de $[\text{O}_2^{*-}]$ .....	18
<b>Figura 18.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{ONOOH}$ , $\text{ONOO}^-$ e de $\text{ONOOCO}_2^-$ em função da variação da velocidade de produção de $\text{ONOOCO}_2^-$ ( $k_{053d}$ ).....	20
<b>Figura 19.</b> Coeficientes de controlo das concentrações das várias espécies pela velocidade de produção de $\text{ONOOCO}_2^-$ ( $k_{053d}$ ).....	20

<b>Figura 20.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de ONOOH, ONOO <sup>-</sup> e de ONOOCO <sub>2</sub> <sup>-</sup> em função da variação da velocidade de consumo de ONOOCO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ((k054d + k055d) / 2) .....	21
<b>Figura 21.</b> Coeficientes de controlo das concentrações das várias espécies pela velocidade de consumo de ONOOCO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ((k054d + k055d) / 2) .....	21
<b>Figura 22.</b> Formação e decomposição dos aniões peroxonitrato, O <sub>2</sub> NOO <sup>-</sup> , e nitrosoperoxocarbonato, ONOOCO <sub>2</sub> <sup>-</sup> .....	22
<b>Figura 23.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de CO <sub>2</sub> , CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , H <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> O, H <sub>3</sub> O <sup>+</sup> , HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> e OH <sup>-</sup> em função da variação de [NO <sup>•</sup> ] <sub>0</sub> .....	24
<b>Figura 24.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de NO <sup>•</sup> e O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> em função da variação de [NO <sup>•</sup> ] <sub>0</sub> .....	24
<b>Figura 25.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de CO <sub>3</sub> <sup>•-</sup> , NO <sub>2</sub> <sup>•</sup> , ONOO <sup>-</sup> e ONOOCO <sub>2</sub> <sup>-</sup> em função da variação de [NO <sup>•</sup> ] <sub>0</sub> .....	25
<b>Figura 26.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , HNO <sub>2</sub> , HO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , HO <sub>2</sub> <sup>•</sup> , N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , O <sub>2</sub> e de O <sub>2</sub> NOO <sup>-</sup> em função da variação de [NO <sup>•</sup> ] <sub>0</sub> .....	25
<b>Figura 27.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de Asc, AscH <sup>-</sup> , AscH <sup>•</sup> e de Asc <sup>•-</sup> em função da variação de [NO <sup>•</sup> ] <sub>0</sub> .....	25
<b>Figura 28.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de TocOH e de TocO <sup>•</sup> em função da variação de [NO <sup>•</sup> ] <sub>0</sub> .....	25
<b>Figura 29.</b> Variação da velocidade de consumo de AscH <sup>-</sup> em função da variação de [NO <sup>•</sup> ] <sub>0</sub> .....	26
<b>Figura 30.</b> Variação da velocidade de consumo de TocOH em função da variação de [NO <sup>•</sup> ] <sub>0</sub> .....	26
<b>Figura 31.</b> Variação da velocidade de formação de LOOH em função da variação de [NO <sup>•</sup> ] <sub>0</sub> .....	26
<b>Figura 32.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de LH, LOH, LOO <sup>-</sup> , LOOH, LO <sup>•</sup> , L <sup>•</sup> e de LOO <sup>•</sup> em função da variação de [NO <sup>•</sup> ] <sub>0</sub> .....	26
<b>Figura 33.</b> Coeficientes de controlo entre espécies resultante da variação de [NO <sup>•</sup> ] .....	27
<b>Figura 34.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de CO <sub>2</sub> , CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , H <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> O, H <sub>3</sub> O <sup>+</sup> , HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> e OH <sup>-</sup> em função da variação de [O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> ] <sub>0</sub> .....	28
<b>Figura 35.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de NO <sup>•</sup> e O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> em função da variação de [O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> ] <sub>0</sub> .....	28
<b>Figura 36.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de CO <sub>3</sub> <sup>•-</sup> , NO <sub>2</sub> <sup>•</sup> , ONOO <sup>-</sup> e ONOOCO <sub>2</sub> <sup>-</sup> em função da variação de [O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> ] <sub>0</sub> .....	28
<b>Figura 37.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , HO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , HO <sub>2</sub> <sup>•</sup> , NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , O <sub>2</sub> e O <sub>2</sub> NOO <sup>-</sup> em função da variação de [O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> ] <sub>0</sub> .....	28
<b>Figura 38.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de Asc, AscH <sup>-</sup> , AscH <sup>•</sup> e de Asc <sup>•-</sup> em função da variação de [O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> ] <sub>0</sub> .....	29
<b>Figura 39.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de TocOH e de TocO <sup>•</sup> em função da variação de [O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> ] <sub>0</sub> .....	29
<b>Figura 40.</b> Variação da velocidade de consumo de AscH <sup>-</sup> em função da variação de [O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> ] <sub>0</sub> .....	30
<b>Figura 41.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de LH, LOH, LOO <sup>-</sup> , LOOH, LO <sup>•</sup> , L <sup>•</sup> e de LOO <sup>•</sup> em função da variação de [O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> ] <sub>0</sub> .....	30
<b>Figura 42.</b> Variação da velocidade de consumo de TocOH em função da variação de [O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> ] <sub>0</sub> .....	30
<b>Figura 43.</b> Variação da velocidade de formação de LOOH em função da variação de [O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> ] <sub>0</sub> .....	30
<b>Figura 44.</b> Coeficientes de controlo das concentrações das várias espécies pela concentração inicial de [O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> ] .....	30

<b>Figura 45.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{CO}_2$ , $\text{CO}_3^{2-}$ , $\text{H}_2\text{CO}_3$ , $\text{H}_2\text{O}$ , $\text{H}_3\text{O}^+$ , $\text{HCO}_3^-$ e $\text{OH}^-$ em função da variação da velocidade de produção de $\text{ONOOCO}_2^-$ ( $k_{053d}$ ) .....	31
<b>Figura 46.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{CO}_2$ , $\text{CO}_3^{2-}$ , $\text{H}_2\text{CO}_3$ , $\text{H}_2\text{O}$ , $\text{H}_3\text{O}^+$ , $\text{HCO}_3^-$ e $\text{OH}^-$ em função da variação da velocidade de consumo de $\text{ONOOCO}_2^-$ ( $(k_{054d} + k_{055d}) / 2$ ) .....	31
<b>Figura 47.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{NO}^*$ e $\text{O}_2^{*-}$ em função da variação da velocidade de produção de $\text{ONOOCO}_2^-$ ( $k_{053d}$ ).....	32
<b>Figura 48.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{NO}^*$ e $\text{O}_2^{*-}$ em função da variação da velocidade de consumo de $\text{ONOOCO}_2^-$ ( $(k_{054d} + k_{055d}) / 2$ ) .....	32
<b>Figura 49.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{CO}_3^{*-}$ , $\text{NO}_2^*$ , $\text{ONOO}^-$ e $\text{ONOOCO}_2^-$ em função da variação da velocidade de produção de $\text{ONOOCO}_2^-$ ( $k_{053d}$ ).....	32
<b>Figura 50.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{CO}_3^{*-}$ , $\text{NO}_2^*$ , $\text{ONOO}^-$ e $\text{ONOOCO}_2^-$ em função da variação da velocidade de consumo de $\text{ONOOCO}_2^-$ ( $(k_{054d} + k_{055d}) / 2$ ).....	32
<b>Figura 51.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{H}_2\text{O}_2$ , $\text{HO}_2^-$ , $\text{N}_2\text{O}_4$ , $\text{NO}_2^-$ , $\text{NO}_3^-$ , $\text{O}_2$ , e de $\text{O}_2\text{NOO}^-$ em função da variação da velocidade de produção de $\text{ONOOCO}_2^-$ ( $k_{053d}$ ).....	33
<b>Figura 52.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{H}_2\text{O}_2$ , $\text{HO}_2^-$ , $\text{NO}_2^-$ , $\text{NO}_3^-$ , $\text{O}_2$ , e de $\text{O}_2\text{NOO}^-$ em função da variação da velocidade de consumo de $\text{ONOOCO}_2^-$ ( $(k_{054d} + k_{055d}) / 2$ ).....	33
<b>Figura 53.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{Asc}$ , $\text{AscH}^-$ , $\text{AscH}^*$ e de $\text{Asc}^{*-}$ em função da variação da velocidade de produção de $\text{ONOOCO}_2^-$ ( $k_{053d}$ ).....	34
<b>Figura 54.</b> Variação da velocidade de consumo de $\text{AscH}^-$ em função da variação da velocidade de produção de $\text{ONOOCO}_2^-$ ( $k_{053d}$ ) .....	34
<b>Figura 55.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{Asc}$ , $\text{AscH}^-$ , $\text{AscH}^*$ e de $\text{Asc}^{*-}$ em função da variação da velocidade de consumo de $\text{ONOOCO}_2^-$ ( $(k_{054d} + k_{055d}) / 2$ ).....	34
<b>Figura 56.</b> Variação da velocidade de consumo de $\text{AscH}^-$ em função da variação da média de $k_{054d}$ e $k_{055d}$ .....	34
<b>Figura 57.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{TocOH}$ e de $\text{TocO}^*$ em função da variação da velocidade de produção de $\text{ONOOCO}_2^-$ ( $k_{053d}$ ) .....	35
<b>Figura 58.</b> Variação da velocidade de consumo de $\text{TocOH}$ em função da variação da velocidade de produção de $\text{ONOOCO}_2^-$ ( $k_{053d}$ ) .....	35
<b>Figura 59.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{TocOH}$ e de $\text{TocO}^*$ em função da variação da velocidade de consumo de $\text{ONOOCO}_2^-$ ( $(k_{054d} + k_{055d}) / 2$ ) .....	35
<b>Figura 60.</b> Variação da velocidade de consumo de $\text{TocOH}$ em função da variação da velocidade de consumo de $\text{ONOOCO}_2^-$ ( $(k_{054d} + k_{055d}) / 2$ ) .....	35
<b>Figura 61.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{LH}$ , $\text{LOH}$ , $\text{LOO}^-$ , $\text{LOOH}$ , $\text{LO}^*$ , $\text{L}^*$ e de $\text{LOO}^*$ em função da variação da velocidade de produção de $\text{ONOOCO}_2^-$ ( $k_{053d}$ ) .....	36
<b>Figura 62.</b> Variação da velocidade de formação de $\text{LOOH}$ em função da variação da velocidade de produção de $\text{ONOOCO}_2^-$ ( $k_{053d}$ ) .....	36
<b>Figura 63.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{LH}$ , $\text{LOH}$ , $\text{LOO}^-$ , $\text{LOOH}$ , $\text{LO}^*$ , $\text{L}^*$ e de $\text{LOO}^*$ em função da variação da velocidade de consumo de $\text{ONOOCO}_2^-$ ( $(k_{054d} + k_{055d}) / 2$ ) .....	36
<b>Figura 64.</b> Variação da velocidade de formação de $\text{LOOH}$ em função da variação da velocidade de consumo de $\text{ONOOCO}_2^-$ ( $(k_{054d} + k_{055d}) / 2$ ) .....	36
<b>Figura 65.</b> Coeficientes de controlo entre espécies resultante da variação da velocidade de produção de $\text{ONOOCO}_2^-$ ( $k_{053d}$ ).....	37

<b>Figura 66</b> Coeficientes de controlo entre espécies resultante da variação da velocidade de consumo de $\text{ONOOCO}_2^- ((k_{054d} + k_{055d}) / 2)$ .....	37
<b>Figura 67.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{CO}_2$ , $\text{CO}_3^{2-}$ , $\text{H}_2\text{CO}_3$ , $\text{H}_2\text{O}$ , $\text{H}_3\text{O}^+$ , $\text{HCO}_3^-$ e $\text{OH}^-$ em função da variação de $[\text{AsCH}^-]_0$ .....	38
<b>Figura 68.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{NO}^*$ e $\text{O}_2^{*-}$ em função da variação de $[\text{AsCH}^-]_0$ .....	38
<b>Figura 69.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{CO}_3^{*-}$ , $\text{NO}_2^*$ , $\text{ONOO}^-$ e $\text{ONOOCO}_2^-$ em função da variação de $[\text{AsCH}^-]_0$ .....	39
<b>Figura 70.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{H}_2\text{O}_2$ , $\text{HO}_2^-$ , $\text{NO}_2^-$ , $\text{NO}_3^-$ , $\text{O}_2$ , e de $\text{O}_2\text{NOO}^-$ em função da variação de $[\text{AsCH}^-]_0$ .....	39
<b>Figura 71.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{Asc}$ , $\text{AsCH}^-$ , $\text{AsCH}^*$ e de $\text{Asc}^{*-}$ em função da variação de $[\text{AsCH}^-]_0$ .....	40
<b>Figura 72.</b> Variação da velocidade de consumo de $\text{AsCH}^-$ em função da variação de $[\text{AsCH}^-]_0$ .....	40
<b>Figura 73.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{TocOH}$ e de $\text{TocO}^*$ em função da variação de $[\text{AsCH}^-]_0$ .....	40
<b>Figura 74.</b> Variação da velocidade de consumo de $\text{TocOH}$ em função da variação de $[\text{AsCH}^-]_0$ .....	40
<b>Figura 75.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{LH}$ , $\text{LOH}$ , $\text{LOO}^-$ , $\text{LOOH}$ , $\text{LO}^*$ , $\text{L}^*$ e de $\text{LOO}^*$ em função da variação de $[\text{AsCH}^-]_0$ .....	40
<b>Figura 76.</b> Variação da velocidade de formação de $\text{LOOH}$ em função da variação de $[\text{AsCH}^-]_0$ .....	40
<b>Figura 77.</b> Coeficientes de controlo entre espécies resultante da variação da concentração inicial de $[\text{AsCH}^-]$ .....	41
<b>Figura 78.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{CO}_2$ , $\text{CO}_3^{2-}$ , $\text{H}_2\text{CO}_3$ , $\text{H}_2\text{O}$ , $\text{H}_3\text{O}^+$ , $\text{HCO}_3^-$ e $\text{OH}^-$ em função da variação de $[\text{TocOH}]_0$ .....	42
<b>Figura 79.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{NO}^*$ e $\text{O}_2^{*-}$ em função da variação de $[\text{TocOH}]_0$ .....	42
<b>Figura 80.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{CO}_3^{*-}$ , $\text{NO}_2^*$ , $\text{ONOO}^-$ e $\text{ONOOCO}_2^-$ em função da variação de $[\text{TocOH}]_0$ .....	42
<b>Figura 81.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{H}_2\text{O}_2$ , $\text{HO}_2^-$ , $\text{NO}_2^-$ , $\text{NO}_3^-$ , $\text{O}_2$ , e de $\text{O}_2\text{NOO}^-$ em função da variação de $[\text{TocOH}]_0$ .....	43
<b>Figura 82.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{Asc}$ , $\text{AsCH}^-$ , $\text{AsCH}^*$ e de $\text{Asc}^{*-}$ em função da variação de $[\text{TocOH}]_0$ .....	44
<b>Figura 83.</b> Variação da velocidade de consumo de $\text{AsCH}^-$ em função da variação de $[\text{TocOH}]_0$ .....	44
<b>Figura 84.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{TocOH}$ e de $\text{TocO}^*$ em função da variação de $[\text{TocOH}]_0$ .....	44
<b>Figura 85.</b> Variação da velocidade de consumo de $\text{TocOH}$ em função da variação de $[\text{TocOH}]_0$ .....	44
<b>Figura 86.</b> Variação das concentrações de estado estacionário de $\text{LH}$ , $\text{LOH}$ , $\text{LOO}^-$ , $\text{LOOH}$ , $\text{LO}^*$ , $\text{L}^*$ e de $\text{LOO}^*$ em função da variação de $[\text{TocOH}]_0$ .....	45
<b>Figura 87.</b> Variação da velocidade de formação de $\text{LOOH}$ em função da variação de $[\text{TocOH}]_0$ .....	45
<b>Figura 88.</b> Coeficientes de controlo entre espécies resultante da variação da concentração inicial de $[\text{TocOH}]$ .....	45
<b>Figura 89.</b> Rede de regeneração endógena de antioxidantes .....	46

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Revisões literárias das funções de ROS e RNS nos sistemas biológicos (Kavdia, 2011) .....	1
<b>Tabela 2.</b> Concentrações padrão de estado estacionário de todas as espécies envolvidas no modelo completo .....	22
<b>Tabela 3.</b> Espécies presentes no sistema e respectivas quantidades iniciais.....	51
<b>Tabela 4.</b> Equações cinéticas das reações e seus parâmetros.....	53

## SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

$C_x^y$	Coeficiente de controlo da variável $y$ pelo parâmetro $x$
BH4	Tetrahidrobiopterina
cGMP	Guanosina Monofosfato cíclico
CSBR	Reator em Batch Continuamente Agitado
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EDRF	Fator de Relaxamento Derivado do Endotélio
FAD	Dinucleótido de Flavina Adenina
FMN	Mononucleótido de Flavina
GSH	Glutationo
GTP	Guanosina Trifosfato
LDL	Lipoproteínas de Baixa Densidade
LH	Peroxidação Lipídica
MCA	Análise de Controlo Metabólico
NADPH	Fosfato de Dinucleótido de Nicotinamida Adenina
NO	Óxido Nítrico
NOS	NO Sintase
RNS	Espécies Reativas de Azoto
ROS	Espécies Reativas de Oxigénio
sGC	Guanilato Ciclase solúvel
SOD	Superóxido Dismutase
TMP	Peroxidação Mediada por Tocoferol
$\alpha$ -TOH	$\alpha$ -Tocoferol



# 1. ENQUADRAMENTO TEÓRICO

## 1.1 CARACTERIZAÇÃO DAS ESPÉCIES OXIDANTES E NITROSANTES E AS SUAS REAÇÕES

As espécies reativas de oxigénio (ROS) e as espécies reativas de azoto (RNS) estão envolvidas em numerosas funções fisiológicas. As ROS e as RNS desempenham um papel-chave nas vias de transdução de sinal, transcrição génica, síntese proteica, e na manutenção da função celular. As ROS e as RNS são importantes na patogénese de muitas doenças incluindo doenças cardiovasculares. A Tabela 1 resume as revisões na literatura das funções das ROS e RNS em vários sistemas biológicos (Kavdia, 2011).

As ROS e as RNS são derivadas da redução parcial (incompleta) de oxigénio e da produção de NO, respetivamente, e ambas podem ocorrer nas formas de radicais livres e não-radicalares. A partir de uma perspetiva fisiológica e fisiopatológica, as principais ROS são o radical anião superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), o radical hidroxilo ( $OH^{\bullet}$ ), o radical hidroperoxilo ( $HO_2^{\bullet}$ ), o peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ), o ácido hipocloroso ( $HClO$ ) e o oxigénio singleto ( $^1O_2$ ), enquanto as RNS importantes são o peroxinitrito ( $ONOO^-$ ), o radical nitrito ( $NO_2^{\bullet}$ ) e o trióxido de diazoto ( $N_2O_3$ ), para além do radical óxido nítrico ( $NO^{\bullet}$ ) (Kavdia, 2011). A sobreprodução de ROS e de RNS resulta em stress oxidativo e nitrosativo, que contribuem para a variedade de processos fisiológicos normais, como a inflamação, e de processos patológicos, como cancro e doenças neurodegenerativas.

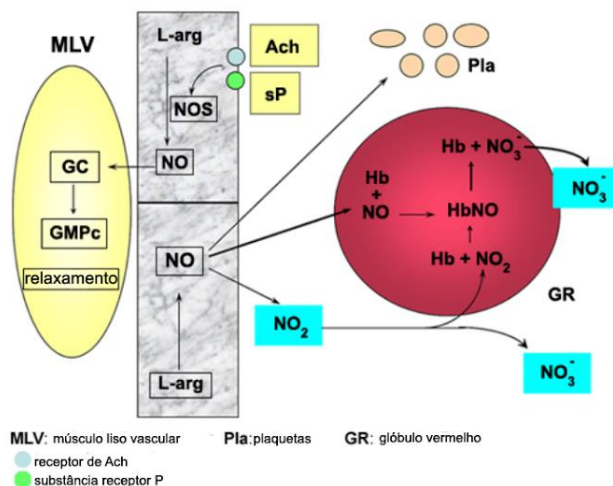
**Tabela 1.** Revisões literárias das funções de ROS e RNS nos sistemas biológicos (Kavdia, 2011)

Tópico de revisão	Referência
Saúde geral e doença	Pacher <i>et. al.</i> , 2007
Resposta imune	Wink <i>et. al.</i> , 2011
Mecanismo molecular e implicações terapêuticas na insuficiência cardíaca	Nediani <i>et. al.</i> , 2011
Citoneurotoxicidade e distúrbios neurológicos	Metodiowa e Koska, 2000
Regulação da função de barreira endotelial	Boueiz e Hassoun, 2009
Sinalização intracelular no músculo esquelético	Powers <i>et. al.</i> , 2011
Regulação da função de neutrófilos	Fialkow <i>et. al.</i> , 2007
Despolimerização de polissacarídeos e seus resultados	Duan e Kasper, 2010

### 1.1.1 ÓXIDO NÍTRICO (NO)

O óxido nítrico, NO, é o *fator de relaxamento derivado do endotélio* (EDRF), é o mensageiro-chave de sinalização nos sistemas cardiovasculares para a regulação de pressão sanguínea e tônus vascular. O NO desempenha muitas funções importantes nos sistemas cardiovasculares incluindo a manutenção de integridade vascular e inibição de agregação das plaquetas, recuperação da adesão leucócito-endotélio, recuperação da proliferação muscular lisa vascular. Uma redução dos níveis endotéliais de NO resulta na disfunção endotelial, e as anormalidades na sinalização de NO foram ligadas a muitas doenças incluindo aterosclerose, hipertensão, hipercolesterolemia, diabetes mellitus, trombose e apoplexia (Kavdia, 2011).

Conforme resumido na Figura 1, o NO é produzido a partir da oxidação enzimática da L-arginina por várias isoformas das enzimas NO sintases (NOS), incluindo NOS neuronal (nNOS), NOS endotelial (eNOS) e NOS indutível (iNOS). Recentemente, foi identificada outra NOS, a NOS mitocondrial (mtNOS). Estas isoformas são divididas com base no seu controlo de atividade pelo cálcio (dependente de calmodulina) intracelular. A atividade da nNOS e da eNOS é dependente do aumento transiente na concentração de cálcio intracelular, enquanto a atividade da iNOS é dependente apenas do nível de transcrição. As enzimas NOS requerem vários cofatores incluindo tetrahydrobiopterina (BH4), dinucleótido de flavina adenina (FAD), mononucleótido de flavina (FMN), fosfato de dinucleótido de nicotinamida adenina (NADPH), e oxigénio molecular para as suas atividades enzimáticas (Kavdia, 2011).



**Figura 1.** Produção do óxido nítrico a partir do endotélio, permitindo assim a vasodilatação e consequentemente a congestão muscular (<https://www.masmusculo.com>).

Das isoformas NOS, a eNOS é a principal fonte de NO biodisponível na vasculatura. O NO produzido por células endoteliais difunde para as células musculares lisas vasculares, onde ativa a guanilato ciclase solúvel (sGC) que catalisa a conversão da guanosina trifosfato (GTP) em guanosina monofosfato cíclico (cGMP), induzindo o relaxamento das células musculares lisas e causando vasodilatação. O NO endotelial difunde para o lúmen vascular, onde reage rapidamente com a hemoglobina nos glóbulos vermelhos no fluxo sanguíneo. O papel dos glóbulos no metabolismo do NO tem sido um foco de muitas investigações experimentais e vários papéis de modelagem de NO.

### 1.1.2 ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÉNIO (ROS)

Em condições fisiológicas normais, uma pequena fração do oxigénio inspirado ( $O_2$ ), usado para gerar energia por fosforilação oxidativa na mitocôndria, é convertida em ROS. Todas as células do tecido vascular, incluindo células endoteliais e células musculares lisas, têm sistemas enzimáticos que produzem ROS. Primariamente a ROS gerada no tecido vascular é o  $O_2^{\bullet-}$  ou o  $H_2O_2$ . As fontes importantes de produção de ROS incluem a NADPH oxidase, nas mitocôndrias, e a xantina oxidase. A partir destas fontes de produção de  $O_2^{\bullet-}$ , a NADPH oxidase associada à membrana é uma importante fonte de  $O_2^{\bullet-}$  em doenças vasculares, incluindo doenças cardiovasculares. A enzima superóxido dismutase (SOD) catalisa a conversão do  $O_2^{\bullet-}$  em  $H_2O_2$ , o  $H_2O_2$  é convertido em água pelas enzimas catalase ou glutathione peroxidase, esta utilizando o glutathione (GSH) como agente redutor. O  $O_2^{\bullet-}$  é altamente reativo e tem uma semivida muito curta, enquanto o  $H_2O_2$  é relativamente estável e tem uma semivida mais longa (Kavdia, 2011).

Em condições fisiológicas normais, os sistemas antioxidantes protegem contra danos causados pelas ROS. Estes sistemas antioxidantes incluem (1) antioxidantes de baixa massa molecular, tais como as vitaminas A, C e E, e (2) sistemas enzimáticos tais como SOD, glutathione peroxidase e catalase. No entanto, quando a geração de ROS prevalece sobre a defesa antioxidante, estes radicais podem alterar a função celular ao interagir com as biomoléculas, promovendo a sua oxidação e possível perda de função, que pode levar à morte celular por apoptose. Este estado é normalmente descrito como stress oxidativo. Tanto o  $O_2^{\bullet-}$  como o  $H_2O_2$  podem alterar vias de sinalização intracelular, incluindo regulação da migração e defesa do hospedeiro. O  $O_2^{\bullet-}$  pode reagir com o  $NO^{\bullet}$ , pelo que assim os níveis de  $O_2^{\bullet-}$  e  $H_2O_2$  podem ser controlados pelo  $NO^{\bullet}$ , e os danos oxidativos são limitados em locais celulares específicos de geração de ROS. No entanto, a reação de  $O_2^{\bullet-}$  com  $NO^{\bullet}$  forma peroxinitrito ( $ONOO^-$ ), uma RNS que destrói o BH4 necessário para a síntese de  $NO^{\bullet}$ . O esgotamento de BH4 não só reduz a síntese de  $NO^{\bullet}$  mas também resulta no desacoplamento de eNOS que pode levar à produção de  $O_2^{\bullet-}$  por eNOS (Kavdia, 2011).

O "stress oxidativo" como conceito na biologia redox e medicina foi formulado em 1985; no início de 2015, aproximadamente 138.000 entradas da PubMed apresentam este termo no título. Este conceito tem os seus méritos e os seus deméritos:

- Entre os méritos está a noção, provocada pelos dois termos combinados de (i) metabolismo aeróbio como um equilíbrio redox em estado estacionário e (ii) as tensões potenciais associadas no equilíbrio, tal como indicado pelo termo, stress, evocando respostas de stress biológico;
- Entre os deméritos está o facto de que os detalhes moleculares subjacentes devem ser elaborados em cada caso particular, o que é um avanço para um conceito global, mas que às vezes é negligenciado. Isso pode levar ao uso indiscriminado do termo, stress oxidativo, sem uma relação clara com a química redox.

### 1.1.3 ESPÉCIES REATIVAS DE AZOTO (RNS)

O  $NO^{\bullet}$  reage rapidamente com o  $O_2^{\bullet-}$  para formar o peroxinitrito ( $ONOO^-$ ), um oxidante forte. O  $O_2^{\bullet-}$  reage 3 a 6 vezes mais depressa com o  $NO^{\bullet}$  ( $k = 9 \times 10^9 M^{-1}s^{-1}$ ) para formar peroxinitrito do que com a SOD ( $k = 2 \times 10^9 M^{-1}s^{-1}$ ) para formar  $H_2O_2$ . Embora a concentração de  $NO^{\bullet}$  (na ordem de poucas dezenas ou centenas de nM) *in-vivo* seja muito menor do que a concentração de SOD (ordem de 10 mM), uma vez formado o  $ONOO^-$  contribui para a disfunção vascular indiretamente ao reduzir a biodisponibilidade de  $NO^{\bullet}$  e ao

iniciar um número de processos patológicos. Em adição à reação rápida com  $O_2^{\bullet-}$  para formar  $ONOO^-$ , o  $NO^{\bullet}$  reage também com o oxigénio para formar  $N_2O_3$  e  $NO_2^{\bullet}$  (Kavdia, 2011).

Estas RNS podem iniciar um número de processos patológicos incluindo peroxidação lipídica, nitração dos resíduos tirosil de proteína, inibição de enzimas metabólicos chave, redução de capacidade antioxidante celular por oxidação rápida de tióis e ruturas da cadeia de DNA, levando à apoptose. Este estado é descrito como stress nitrosativo. O  $ONOO^-$  é um possível iniciador para a reação em cadeia de radicais livres que resulta da peroxidação lipídica, em particular em baixa densidade (LDL) no sangue, que se acredita ser a primeira e principal etapa na formação da placa aterosclerótica (ou aterogénese). Também oxida BH4, um cofator de NOS, para dihidrobiopterina, resultando na formação de  $NO^{\bullet}$  reduzido ( $NO^-$ ) (Kavdia, 2011; Stanbro, 2000).

O papel principal na defesa antioxidante é cumprido por enzimas antioxidantes, e não por compostos antioxidantes de moléculas pequenas. O campo da pesquisa de stress oxidativo abrange a química, a bioquímica, a biologia celular, a fisiologia e a fisiopatologia, todo o percurso para a medicina e a pesquisa sobre saúde e doenças (Sies, 2015).

## 1.2 PAPEL DOS MODELOS MATEMÁTICOS EM STRESSES OXIDATIVOS E NITROSATIVOS

Muitos aspetos das interações de  $NO^{\bullet}$ ,  $O_2^{\bullet-}$  e  $ONOO^-$  em condições fisiopatológicas tais como doenças cardiovasculares, hipertensão e diabetes foram estudados extensivamente em muitos modelos ambos *in vivo* e *in vitro* na maioria das circunstâncias. A literatura está cheia de controvérsias que surgem por causa de abordagens reducionistas nos métodos. Estas controvérsias incluem (1) o papel das vitaminas antioxidantes A, C e E em melhorar o stress oxidativo e melhorar condições de doença, e (2) o potencial de sistemas enzimáticos tais como SOD e eNOS em causar ou remover stresses oxidativos e nitrosativos nos sistemas cardiovasculares (Kavdia, 2011).

As causas e as consequências dos stresses oxidativos e nitrosativos dependem de um balanço delicado entre muitos processos. Uma melhor compreensão de NO, ROS e RNS em sistemas biológicos vai exigir a avaliação quantitativa de interações bioquímicas e transporte destas espécies a partir de uma perspectiva de sistemas. As abordagens da modelação matemática podem ajudar a elucidar o comportamento destas interações para um sistema particular. Embora os estudos experimentais envolvendo as 3 moléculas importantes ( $NO^{\bullet}$ ,  $O_2^{\bullet-}$  e  $ONOO^-$ ) sejam muitos, os modelos matemáticos são limitados por causa da complexidade das interações bioquímicas (Kavdia, 2011).

### 1.2.1 OS DIFERENTES MODELOS DA PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA

A peroxidação lipídica é um processo radicalar de reação em cadeia iniciado por radicais em meios lipídicos, tais como membranas e lipoproteínas, e é também um processo degenerativo que se acredita desempenhar um papel-chave na patogénese de muitas doenças, e para o qual existem modelos matemáticos validados de várias complexidades (Waldeck e Stocker, 1996; Zielinski e Pratt, 2017).

Os modelos, compostos por equações diferenciais simultâneas, foram utilizados para avaliar os perfis de concentração dos reagentes de interesse. Os esquemas de reação monofásicos que descrevem a peroxidação lipídica e a antioxidação de acordo com o modelo "convencional" e de peroxidação mediada por tocoferol (TMP) foram simulados para condições de fluxos radicais baixos e altos produzidos por iniciadores azo termolábeis. Os resultados mostram que as dependências particulares das taxas de peroxidação lipídica ( $R_p$ )

nas taxas de iniciação ( $R_i$ ) para os dois esquemas foram preditas com precisão pelas simulações (Waldeck e Stocker, 1996).

Ambos os modelos previram qualitativamente a inibição da peroxidação lipídica na presença do  $\alpha$ -tocoferol ( $\alpha$ -TOH) sob condições de alto fluxo radicalar, sugerindo que *ambos* podem descrever a peroxidação lipídica inibida *em solução* sob estas condições. A TMP, mas não o modelo convencional, pode também prever o comportamento complexo experimentalmente observado da peroxidação lipídica de LDL induzida com diferentes concentrações de iniciadores azo. Especificamente, a TMP reproduziu fielmente o comprimento da cadeia cinética observada da peroxidação lipídica de  $\gg 1$  em baixa e  $\ll 1$  alta concentração do iniciador (ou seja, 0,2 e 10 mM, respetivamente para LDL a 1  $\mu$ mol de apoB-100 / L) durante o período de oxidação contendo o  $\alpha$ -TOH. Também demonstrou a não-dependência experimentalmente observada de  $R_p^{TMP}$  em  $R_i$  (Waldeck e Stocker, 1996).

A análise cinética da geração radicalar e da iniciação da peroxidação lipídica num modelo prolongado de dois compartimentos de TMP mostraram que a separação de fases de reações bimoleculares numa suspensão de partículas de LDL pode levar a um aumento de ca. 400 vezes na taxa de formação do hidroperóxido lipídico. As ações co-antioxidantes experimentalmente observadas do ascorbato solúvel em água e do ubiquinol-10 lipossolúvel foram verificadas usando este modelo. É proposto um modelo biofísico simples que constitui as reações da TMP e incorpora a natureza compartimental de uma suspensão de LDL. Juntos, os resultados demonstram que a TMP é o único modelo que se adapta aos dados experimentais que descrevem os estágios iniciais da peroxidação lipídica de LDL sob várias condições de oxidação. As implicações dessas conclusões são discutidas em relação à aterogénese e um modelo alternativo recentemente proposto de peroxidação lipídica de LDL (Waldeck e Stocker, 1996).

### 1.2.2 MODELOS CINÉTICOS

Um dos objetivos mais comuns dos modelos cinéticos é compreender como é que os fluxos de  $NO^*$  e  $O_2^{*-}$  afetam um resultado particular. Os modelos cinéticos de  $NO^*$ ,  $O_2^{*-}$  e  $ONOO^-$  estudaram diversos aspetos das funções destas moléculas, que incluíam (1) as cinéticas de reação de NO e superóxido, (2) a dismutação de superóxido catalisada por superóxido dismutase, (3) a função de GSH, e (4) os modelos da produção de  $O_2^{*-}$  a partir da cadeia de transporte mitocondrial (Kavdia, 2011).

Por exemplo, a nitração de resíduos proteicos tirosina é uma modificação pós-translacional covalente de agentes nitrantes observada em muitas condições de doença. As vias de nitração envolvendo  $ONOO^-$  resultam na formação de complexos oxo-metálicos e nitrosoperoxocarbonato ( $ONOOCCO_2^-$ ) que se decompõem para os radicais carbonato ( $CO_3^{*-}$ ) e nitrito ( $NO_2^-$ ). O  $NO_2^-$  oxida a tirosina a radical tirosilo e a 3-nitrotirosina. Por causa da reação limitada pela difusão de  $NO^-$  com  $O_2^{*-}$ , e da capacidade do produto de reação  $ONOO^-$  para nitrar tirosina *in vitro*, a formação de 3-nitrotirosina é comumente utilizada como um marcador indireto para o local de formação *in vivo* de  $ONOO^-$  (Kavdia, 2011).

O objetivo dos modelos computacionais da nitração de tirosina é avaliar se o  $ONOO^-$  pode ser um mediador de nitração biológica. Esta questão é levantada devido a aparentes observações conflitantes no rendimento de nitração nos sistemas homogéneos biológicos. As vias alternativas para a nitração de tirosina foram também propostas, incluindo mecanismos de transição dependentes de metais e de hemo-peroxidases, como a mieloperoxidase e o eosinófilo peroxidase, catalisando a formação de nitrotirosina por ação

de nitrito e  $H_2O_2$ . Em sistemas homogêneos, os rendimentos máximos de nitração são realizados na razão de fluxo  $NO^*/O_2^{\bullet-}$  de aproximadamente um, e um excesso de  $NO^*$  ou de  $O_2^{\bullet-}$  resulta na diminuição nos rendimentos de nitração. Uma explicação possível para o rendimento reduzido com um excesso de  $NO^*$  ou de  $O_2^{\bullet-}$  pode ser a desativação de nitração com excesso de  $NO^*$  e as interações de  $O_2^{\bullet-}$  com  $NO_2$  e radicais tirosilo, respetivamente. No entanto, a nitração em sistemas biológicos aumenta com o crêscimo de  $NO^*$  ou de  $O_2^{\bullet-}$ . Esta contradição invalida o uso da 3-nitrotirosina como um marcador para o  $ONOO^-$  (Kavdia, 2011).

Para resolver o aparente conflito no rendimento de nitração entre os dados *in vivo* e *in vitro*, Quijano *et al.* modelou a formação da 3-nitrotirosina usando fluxos simultâneos de  $NO^*$  e de  $O_2^{\bullet-}$ . Eles puseram a hipótese de que a presença de SOD e a difusão transmembranar de  $NO^*$  impedem a acumulação de  $NO^*$  e de  $O_2^{\bullet-}$  e, deste modo, a formação de  $ONOO^-$ . A difusão transmembranar de  $NO^*$  foi representada com uma rápida taxa de desaparecimento de  $NO^*$  de  $400\text{ s}^{-1}$ . A inclusão da difusão transmembranar de NO e SOD reduz a concentração de  $NO^*$  dos  $12\text{ }\mu\text{M}$  aos  $40\text{ pM}$  e a concentração de  $O_2^{\bullet-}$  dos  $200\text{ nM}$  ao  $0,8\text{ pM}$ , respetivamente. Os seus dados mostraram que a nitração mediada por  $ONOO^-$  em sistemas biológicos é um processo de baixo rendimento, mas responsivo a aumentar em formação de  $NO^*$  e  $O_2^{\bullet-}$ . Tanto a incorporação de SOD como a difusão de NO aumentaram a formação de nitração de tirosina quando a taxa de fluxos de  $NO^*$  e  $O_2^{\bullet-}$  aumentou para acima de um. No entanto, os rendimentos de nitração eram significativamente mais baixos na gama de fentomolar por minuto quando a SOD e a difusão de NO eram incorporadas comparado com a gama de nanomolar por minuto quando a SOD ou difusão de NO eram incorporadas (Kavdia, 2011).

Lancaster (2006) investigou sistematicamente a oxidação, a nitrosação e as vias de nitração para melhor compreender as vias de reação dominante e as formações intermediárias e de produto. A análise indicou que a oxidação, comparado com nitrosação e nitração, é a via dominante para o destino do  $NO^*$  e do  $O_2^{\bullet-}$ . Quando um fluxo de  $NO^*$  ou de  $O_2^{\bullet-}$  varia e outro é constante, há um acréscimo linear na concentração de  $ONOO^-$  que atinge o platô em certas condições.

Ainda é discutível se o  $ONOO^-$  é a fonte exclusiva de nitração de tirosina *in vivo*. Os mecanismos de reação alternativos, que são normalmente ignorados, precisam de ser considerados na nitração de tirosina *in vivo*, incluindo uma função para o  $NO_2^*$ . A modelação de nitração tem sido restrita para apenas a nitração de tirosina, mas também pode ser estendida à nitração de resíduos de triptofano, de bases de DNA e de açúcares (Kavdia, 2011).

## 2. MÉTODOS

### 2.1 MODELAÇÃO DE REATORES CONTINUAMENTE AGITADOS

Para a construção do modelo cinético que descreve as reações entre espécies reativas, antioxidantes e biomoléculas, foram recolhidos dados da literatura relativos às reações descritas na Tabela 4 (apresentada em apêndice); os valores iniciais utilizados para cada variável são apresentados na Tabela 3 (em apêndice). As leis cinéticas e respetivos parâmetros cinéticos foram utilizados para construir um sistema de equações diferenciais ordinárias utilizando a lei de ação de massas para todas as reações. As reações enzimáticas incluídas foram descritas por leis de pseudo-segunda ordem, conforme foi descrito por Justino e Ferreira (2007).

O sistema em estudo foi modelado através de um reator em batch continuamente agitado (*Continuously Stirred Batch Reactor*, CSBR). Esta abordagem pressupõe-se que algumas das espécies consideradas no modelo estão presentes inicialmente a uma determinada concentração; a agitação contínua permite que a concentração de cada uma das espécies presentes seja homogênea em todo o espaço, o que remove a necessidade de considerar a distribuição espacial dos reagentes. Num CSBR, o balanço de massa de cada espécie  $X$  é dado pela soma das velocidades de todas as reações em que essa espécie participa, quer como reagente quer como produto. Seguindo o formalismo das leis de ação de massa, para uma reação reversível



a variação da concentração de  $X$  ao longo do tempo é dada por

$$\frac{d[X]}{dt} = k_{dir}[A][B]^2 - k_{inv}[X]^2[Y] \quad (2)$$

em que  $k_{dir}$  e  $k_{inv}$  são, respetivamente, as constantes de velocidade das reações no sentido direto e no sentido inverso.

O modelo construído assenta na produção de radical anião superóxido e de óxido nítrico pelas células endoteliais e pelos leucócitos através do sistema enzimático NADPH oxidase e das sintases do óxido nítrico, e engloba as espécies químicas cuja produção não decorre das reações consideradas (iões, proteínas, lípidos e espécies com ação antioxidante). A produção das restantes espécies reativas (como por exemplo o  $H_2O_2$  e o  $HO_2^-$ ) decorre das reações consideradas no modelo, pelo que a sua concentração inicial é nula (Justino e Ferreira, 2007).

Algumas das concentrações iniciais das espécies relacionadas com o efeito tampão do monohidrogenocarbonato ( $CO_2$ ,  $H_2CO_3$ ,  $HCO_3^-$  e  $CO_3^{2-}$ ) foram determinadas recorrendo igualmente à recolha de dados da literatura (Tabela 3, apresentada em apêndice). As concentrações em estado estacionário obtidas foram posteriormente utilizadas no modelo global, estando descritas na Tabela 4; estas espécies foram consideradas variáveis independentes (o dióxido de carbono,  $CO_2$ , não foi considerado uma vez que não entra na

descrição do modelo). O oxigénio molecular não foi considerado uma variável independente devido à sua concentração inicial ser zero.

A peroxidação lipídica (LH) foi descrita tendo como base os modelos de Antunes *et al.* (1996) e de Salvador (1995). No modelo, a LH corresponde à soma de todas as espécies lipídicas insaturadas; a concentração de LH utilizada no modelo, 2 M, é baseada na concentração de fosfatidilcolina na lecitina do ovo, de acordo com Barclay e Ingold (1981). Não foram feitas quaisquer aproximações - mesmo que o conteúdo não lipídico das membranas celulares não seja na ordem de 75 % dos constituintes totais, a concentração LH será sempre muito superior à das restantes espécies reativas presentes no modelo.

A partir das leis cinéticas de cada reação foram escritas as equações diferenciais que descrevem a evolução no tempo da concentração de cada espécie envolvida. Todas as simulações e análises do modelo foram feitas utilizando o simulador online JWS<sup>1</sup>, que tem a vantagem de efetuar as simulações rapidamente num servidor dedicado acessível remotamente, não tendo restrições ao nível da dimensão do sistema nem da complexidade das leis cinéticas envolvidas.

## 2.2 ANÁLISE DE CONTROLO METABÓLICO

A análise de controlo metabólico, MCA, é uma estrutura matemática para descrever caminhos metabólicos, sinalizadores e genéticos. A MCA quantifica como as variáveis (fluxos e concentrações) das espécies dependem dos parâmetros da rede. Em particular, é capaz de descrever como as propriedades dependentes da rede, chamadas de coeficientes de controlo, dependem das propriedades locais chamadas elasticidades (Fell, 2004; Heinrich e Schuster, 1996).

### 2.2.1 COEFICIENTES DE CONTROLO

Um coeficiente de controlo mede a mudança relativa do estado estacionário numa variável do sistema, por exemplo, o fluxo da via ( $J$ ) ou a concentração do metabolito ( $X$ ) em resposta uma alteração relativa num parâmetro, por exemplo a atividade enzimática ou a taxa estacionária ( $v_i$ ) do passo  $i$ . Os dois principais coeficientes de controlo são o coeficiente de controlo de fluxo definido por

$$C_{v_i}^J = \frac{\partial J}{\partial v_i} \frac{v_i}{J} = \frac{\partial \ln J}{\partial \ln v_i} \quad (3)$$

e o coeficiente de controlo de concentração definido por

$$C_{v_i}^X = \frac{\partial \ln X}{\partial \ln v_i} \quad (4)$$

que permitem quantificar, respetivamente, o efeito da variação de um parâmetro sobre o fluxo de uma reação ou de uma via, e o efeito da variação de um parâmetro sobre a concentração de uma espécie (Fell, 2004).

<sup>1</sup> JWS Online – Biological Systems Modelling (<https://jjj.bio.vu.nl/>)



Os teoremas da soma do controlo de fluxo e de concentração implicam que os fluxos metabólicos e as concentrações são propriedades sistemáticas e que o seu controlo é compartilhado por todas as reações no sistema. Quando uma única reação muda o seu controlo do fluxo, esta é compensada por mudanças no controlo do mesmo fluxo por todas as outras reações; e no caso da concentração, algumas reações exercem controlo positivo e outras exercem controlo negativo (Fell, 2004; Heinrich e Schuster, 1996).

### 2.2.2 COEFICIENTE DE ELASTICIDADE

O coeficiente de elasticidade mede a resposta local de uma enzima ou outra reação química às mudanças no seu ambiente. Tais mudanças incluem fatores como substratos, produtos ou concentrações efetoras. O coeficiente de elasticidade é definido por

$$\epsilon_X^v = \frac{\partial v}{\partial X} \frac{X}{v} = \frac{\partial \ln v}{\partial \ln X} \quad (5)$$



### 3. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DE RESULTADOS

#### 3.1 MODELO SEM ANTIOXIDANTES - VARIAÇÃO INDIVIDUAL DE PARÂMETROS

Numa primeira fase, foi implementado um modelo cinético relativo apenas à interconversão das espécies reativas geradas a partir de radical anião superóxido e óxido nítrico, através da implementação das reações 1 a 87 descritas na Tabela 4 apresentada em anexo.

Durante a implementação deste modelo foi necessário retirar todas as reações relacionadas com a produção e consumo do radical anião óxido ( $O^{\bullet-}$ ), porque levavam a que o modelo não atingisse nunca um estado estacionário (reações 33, 35, 36, 37, 40, 42, 44, 45, 48, 49, 68, 70 e 82). Apesar de este radical reagir muito rapidamente com aminoácidos, por exemplo: Glicina, Alanina e  $\alpha$ -Metilalanina, a sua formação *in vivo* ocorre apenas por desprotonação do radical hidroxilo (reação 33); uma vez que o radical hidroxilo não se forma em concentrações elevadas, e reage muito rapidamente com outras moléculas, o radical anião óxido deverá ter um papel pouco relevante biologicamente, e por isso as reações referidas foram removidas (Armstrong *et al.*, 2004).

Após se ter verificado que o modelo atingia de facto um estado estacionário, procedeu-se à variação de parâmetros seleccionados de modo a analisar o efeito de cada parâmetro sobre o equilíbrio do sistema.

##### 3.1.1 VARIAÇÃO DAS CONDIÇÕES INICIAIS DE $NO^{\bullet}$ E $O_2^{\bullet-}$

Um dos primeiros aspetos a testar é a adequação das condições iniciais do sistema. No sistema construído, as únicas espécies reativas presentes inicialmente são o óxido nítrico,  $NO^{\bullet}$ , e o radical anião superóxido,  $O_2^{\bullet-}$ . Para analisar se as condições iniciais são adequadas, fizeram-se as seguintes simulações:

- variação simultânea da concentração inicial de óxido nítrico,  $NO^{\bullet}$ , e de radical anião superóxido,  $O_2^{\bullet-}$ ;
- variação da concentração inicial de óxido nítrico;
- variação da concentração inicial de radical anião superóxido.

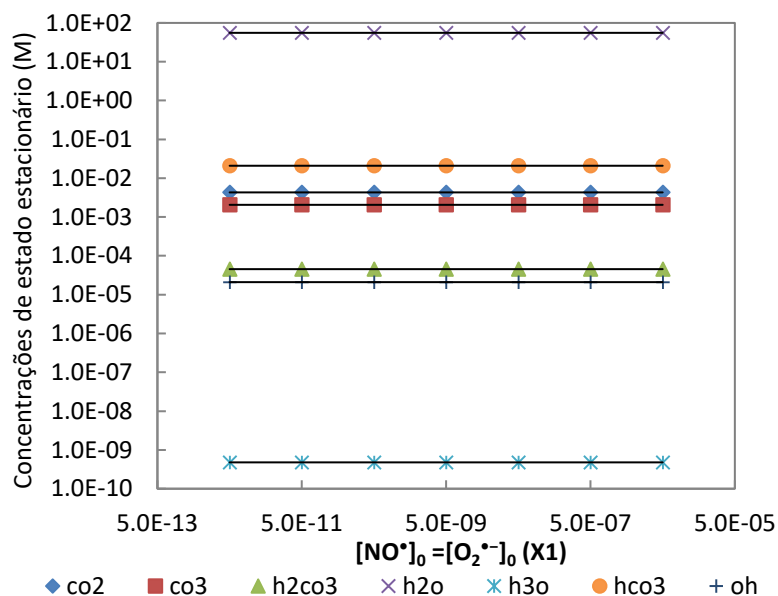
Em cada caso, os valores das concentrações iniciais foram variados de  $5 \times 10^{-12}$  M a  $5 \times 10^{-6}$  M (5 pM a 5  $\mu$ M), correspondendo a uma variação de 3 ordens de grandeza para cima e para baixo do valor padrão (5 nM).

##### 3.1.1.1 Variação simultânea das concentrações iniciais de $NO^{\bullet}$ e $O_2^{\bullet-}$

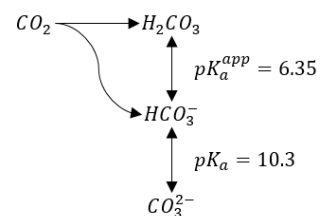
Da Figura 2 a Figura 7 apresentam-se os resultados obtidos quando se variaram simultaneamente as concentrações iniciais de óxido nítrico e de superóxido.

As concentrações de estado estacionário das espécies envolvidas no sistema tampão de bicarbonato ( $CO_2$ ,  $H_2CO_3$ ,  $CO_3^{2-}$  e  $HCO_3^-$ ) não apresentam quaisquer variações com o aumento das concentrações iniciais de óxido nítrico e de radical anião superóxido, (Figura 2) o que

significa que o modelo utilizado para implementar a tamponização do sangue está bem construído (reações 59 a 64, Figura 3). Por outro lado, isto também pode ser verificado pelo facto de as concentrações de  $H_2O$ ,  $H_3O^+$  e  $OH^-$  não variarem. Contudo, as concentrações de  $H_3O^+$  e  $OH^-$  estão na ordem de grandeza de  $10^{-9}$  e  $10^{-5}$  M, respetivamente, a que corresponde um pH de aproximadamente 9, o que está longe do valor fisiológico.



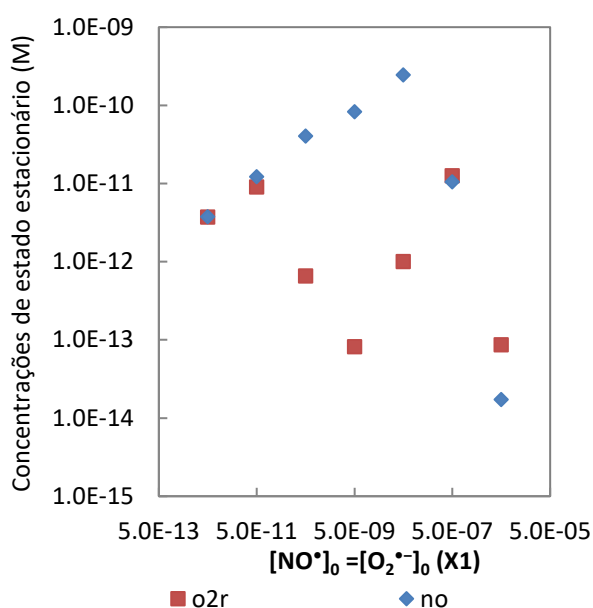
**Figura 2.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $CO_2$ ,  $CO_3^{2-}$ ,  $H_2CO_3$ ,  $H_2O$ ,  $H_3O^+$ ,  $HCO_3^-$  e  $OH^-$  em função da variação de  $[NO^\bullet]_0$  e de  $[O_2^{\bullet-}]_0$



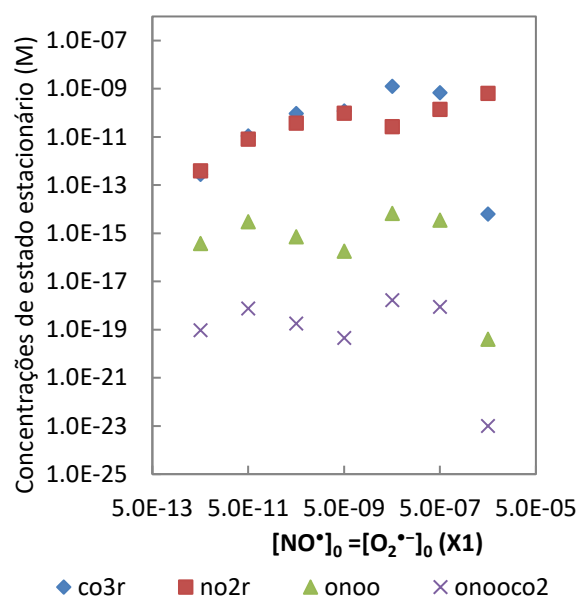
**Figura 3.** Sistema carbonato/hidrogenocarbonato de tamponização do sangue

O aumento simultâneo das concentrações iniciais de óxido nítrico e superóxido até ca. 0,05  $\mu M$  leva a um aumento da concentração de estado estacionário de óxido nítrico, mas acima desse valor a concentração final de óxido nítrico diminui (Figura 4); esta diminuição das concentrações finais quando a concentração inicial dos reagentes aumenta também se verifica no caso do peroxinitrito, do aducto deste com dióxido de carbono ( $ONOOCO_2^-$ ) e do radical carbonato (Figura 5).

Contudo, a concentração de superóxido assume um comportamento mais complexo, atingindo um mínimo local quando as concentrações iniciais são na ordem de 5 nM (Figura 4). A existência deste comportamento multifásico mais complexo, bem como da existência de um mínimo da concentração em estado estacionário de superóxido para valores iniciais próximos dos valores fisiológicos sugere que o modelo até aqui construído será parcialmente plausível - em situações fisiológicas os organismos mantêm os níveis das espécies reativas bem controlados, procurando minimizar a sua produção de modo a não exacerbar os efeitos lesivos destas espécies.



**Figura 4.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $\text{NO}^*$  e  $\text{O}_2^{*-}$  em função da variação de  $[\text{NO}^*]_0$  e de  $[\text{O}_2^{*-}]_0$

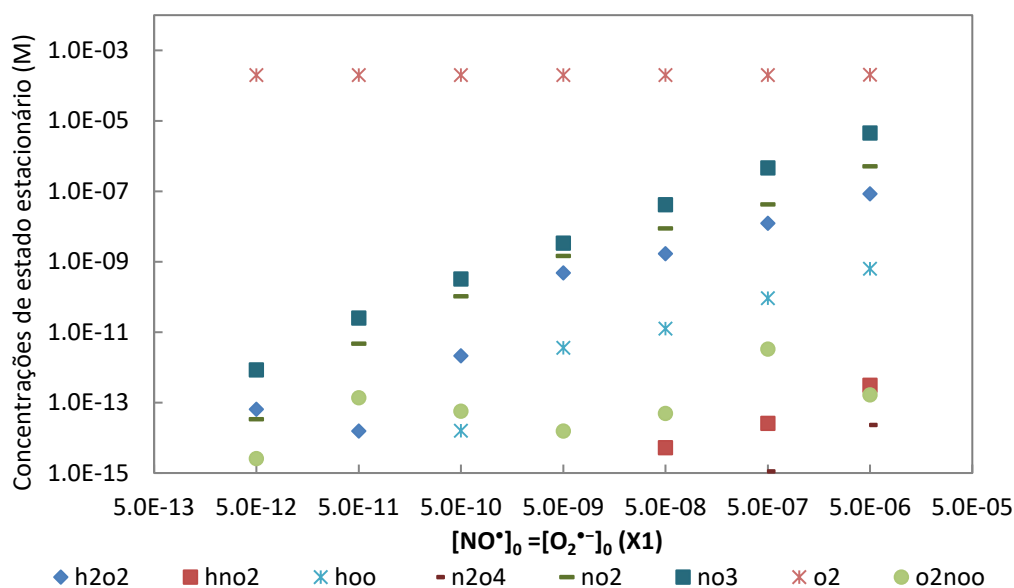


**Figura 5.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $\text{CO}_3^{*-}$ ,  $\text{NO}_2^*$ ,  $\text{ONOO}^-$  e  $\text{ONOOCO}_2^-$  em função da variação de  $[\text{NO}^*]_0$  e de  $[\text{O}_2^{*-}]_0$

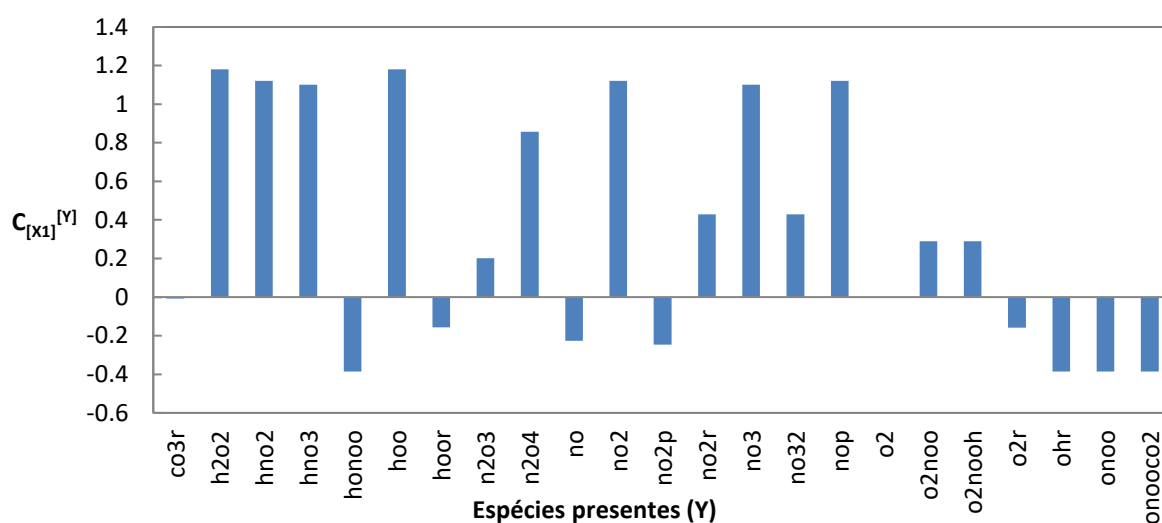
Na Figura 6, o aumento das concentrações iniciais de óxido nítrico e de superóxido leva ao aumento das concentrações de estado estacionário das espécies presentes. Só a de oxigénio mantém-se constante por não haver reação nela envolvida. O anião nitrato apresenta um grande acréscimo de concentração devido aos dois radicais formarem peroxinitrito que se decompõe em nitrato. Os valores das espécies  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{ONOOH}$ ,  $\text{HO}_2^*$ ,  $\text{N}_2\text{O}_3$ ,  $\text{NO}_3^{2-}$ ,  $\text{NO}^+$ ,  $\text{O}_2\text{NOOH}$ ,  $\text{OH}^*$  e  $\text{NO}_2^+$  não surgem na figura porque as suas concentrações são inferiores a 1 fM. Em particular, a concentração final de nitrato aumenta, o que está de acordo com a hipótese de se estar a verificar um aumento das espécies reativas, uma vez que o nitrato e o nitrito são considerados os produtos finais da degradação de espécies reativas de azoto e de oxigénio (Pacher *et al.*, 2013).

Na Figura 7 apresentam-se os coeficientes de controlo das concentrações de estado estacionário devidos à variação simultânea das concentrações iniciais de reagentes. Um coeficiente de controlo com valor absoluto elevado (acima de 1) indica uma espécie que é significativamente afetada pela perturbação aplicada, enquanto que um valor absoluto baixo, inferior a 1, indica uma espécie cuja concentração não é significativamente afetada pela perturbação aplicada.

Neste caso, verifica-se que as espécies reativas cuja concentração é mais afetada pela perturbação aplicada (variação simultânea das concentrações iniciais de reagentes) são o peróxido de hidrogénio e a respetiva base conjugada (representada por  $\text{hoo}$ ), bem como várias espécies reativas de azoto, em particular as derivadas de nitrato e nitrito, marcadores clássicos da formação de espécies nitrosantes (Pacher *et al.*, 2013).



**Figura 6.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{HNO}_2$ ,  $\text{HO}_2^-$ ,  $\text{N}_2\text{O}_4$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{O}_2$  e  $\text{O}_2\text{NOO}^-$  em função da variação de  $[\text{NO}^\bullet]_0$  e de  $[\text{O}_2^{\bullet-}]_0$

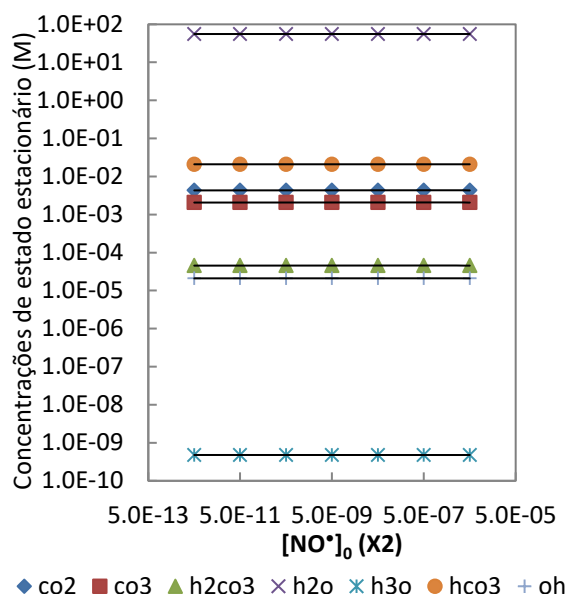


**Figura 7.** Coeficientes de controlo das concentrações das várias espécies pela concentração inicial de  $[\text{NO}^\bullet]$  e de  $[\text{O}_2^{\bullet-}]$

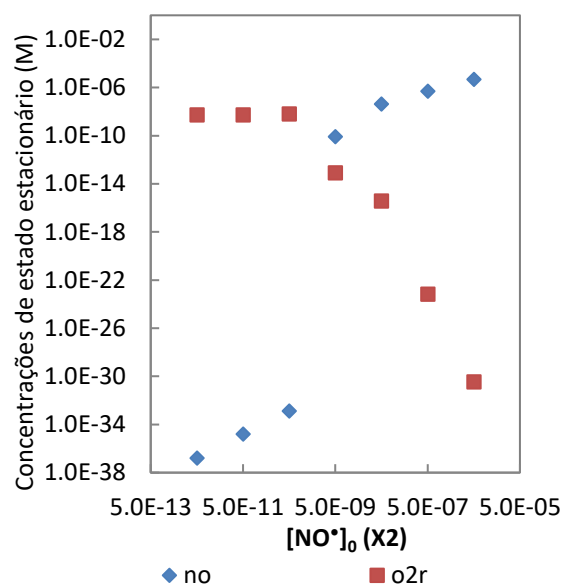
### 3.1.1.2 Variação da concentração inicial de óxido nítrico

Para além da variação simultânea dos radicais óxido nítrico e superóxido, e de modo a tentar elucidar o comportamento multifásico das suas concentrações de estado estacionário, observado na Figura 4, variaram-se também individualmente as concentrações iniciais destes dois radicais. Nas figuras Figura 8 a Figura 12 apresentam-se os resultados obtidos com a variação apenas da concentração inicial de óxido nítrico.

Tal como no caso anterior, as concentrações das espécies envolvidas no sistema de tamponização do sangue, bem como de  $H_2O$ ,  $H_3O^+$  e de  $OH^-$ , mantêm-se constantes (Figura 8), apesar de  $H_3O^+$  e de  $OH^-$  estarem presentes em concentrações não fisiológicas ( $10^{-9}$  e  $10^{-5}$  M, respetivamente). Verificou-se também que, ao aumentar a concentração inicial do óxido nítrico, a concentração de estado estacionário de óxido nítrico também aumenta, conforme seria esperado, e que a concentração de superóxido diminui (Figura 9). Tendo em conta que as espécies reativas presentes ao início são o óxido nítrico e o superóxido, ao aumentar a concentração inicial de um deles promove-se a reação entre ambas, o que leva a um maior consumo do outro (Wink *et al.*, 2001; Beckman e Koppenol, 1996).



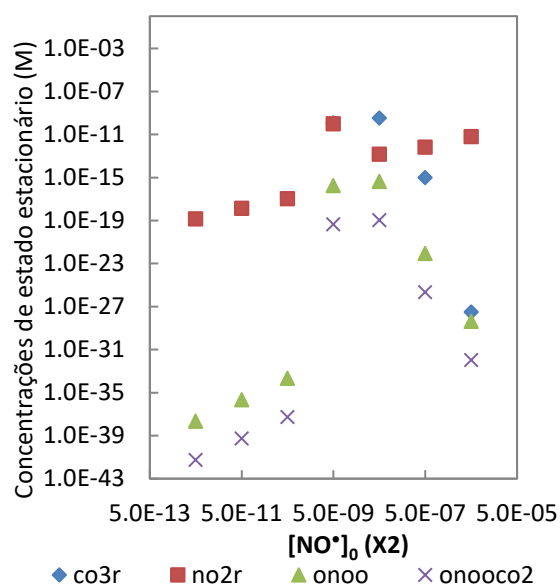
**Figura 8.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $CO_2$ ,  $CO_3^{2-}$ ,  $H_2CO_3$ ,  $H_2O$ ,  $H_3O^+$ ,  $HCO_3^-$  e  $OH^-$  em função da variação de  $[NO^*]_0$



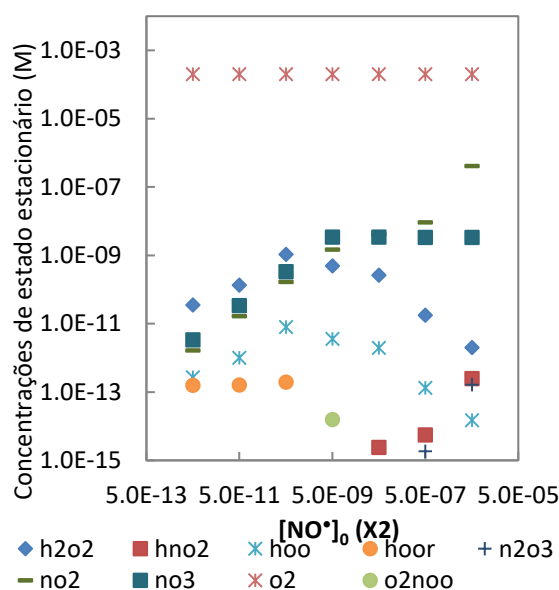
**Figura 9.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $NO^*$  e  $O_2^{\cdot -}$  em função da variação de  $[NO^*]_0$

A Figura 10 mostra que com o aumento da concentração inicial do óxido nítrico, as concentrações de estado estacionário das espécies envolvidas também aumentam, com exceção da do radical carbonato que diminui. Contudo, neste caso estas espécies estão presentes com concentrações inferiores às observadas com o aumento simultâneo das concentrações iniciais de  $O_2^{\cdot -}$  e de  $NO^*$  (Figura 5).

Na Figura 11, o aumento da concentração inicial de óxido nítrico leva ao aumento das concentrações de estado estacionário das espécies presentes. O oxigénio é a exceção cuja concentração de estado estacionário se encontra estável. O anião nitrato apresenta um acréscimo menor de concentração que anteriormente por só haver a concentração inicial de um dos radicais a aumentar. Os valores das espécies  $HNO_3$ ,  $ONOOH$ ,  $N_2O_4$ ,  $NO_2^+$ ,  $NO_3^{2-}$ ,  $NO^+$ ,  $O_2NOOH$  e  $OH^*$  não surgem na figura porque as suas concentrações são inferiores a 1 fM. Tal como anteriormente, verifica-se que as concentrações de estado estacionário destas espécies são inferiores às observadas com o aumento simultâneo das concentrações iniciais de  $O_2^{\cdot -}$  e de  $NO^*$  (Figura 6).



**Figura 10.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $CO_3^{\bullet-}$ ,  $NO_2^\bullet$ ,  $ONOO^-$  e  $ONOOCO_2^-$  em função da variação de  $[NO^\bullet]_0$



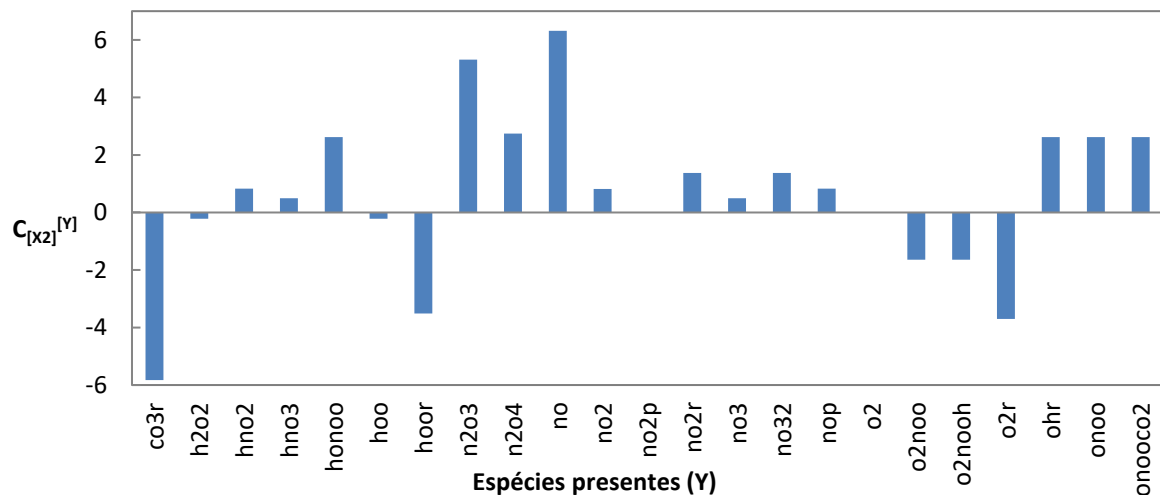
**Figura 11.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $H_2O_2$ ,  $HNO_2$ ,  $HO_2^\bullet$ ,  $HO_2^\bullet$ ,  $N_2O_3$ ,  $NO_2^\bullet$ ,  $NO_3^\bullet$ ,  $O_2$ ,  $O_2NOO^-$  em função da variação de  $[NO^\bullet]_0$

Através da análise dos coeficientes de controlo das concentrações de estado estacionário relativos à variação da concentração inicial de óxido nítrico (Figura 12) verifica-se que os coeficientes de controlo com maior valor absoluto estão associados ao estímulo da produção de espécies reativas de azoto ( $N_2O_3$ ,  $N_2O_4$ , peroxinitrito e espécies derivadas deste) bem como à diminuição das concentrações finais de radicais carbonato, hidroperoxilo e superóxido. Verifica-se assim que o aumento da concentração inicial de  $NO^\bullet$  se reflete maioritariamente no aumento da concentração de espécies reativas de azoto, em particular de  $N_2O_3$ , e na diminuição da concentração de estado estacionário de espécies reativas de oxigénio.

Particularmente relevante para a validação do modelo é o elevado coeficiente de controlo da concentração de estado estacionário do trióxido de diazoto pela concentração inicial de óxido nítrico, uma vez que está bem estabelecido na literatura que fluxos elevados de óxido nítrico, característicos de situações patológicas, favorecem a formação de  $N_2O_3$ , que regula a atividade de vários enzimas através da formação de  $NO^+$  que irá nitrosar resíduos de cisteína em várias proteínas, um processo conhecido como S-nitrosilação, que consiste na modificação pós-transducional de proteínas, e tem, tal como a fosforilação de proteínas, um importante papel regulatório (Ali *et al.*, 2013).

Por outro lado, o coeficiente de controlo negativo associado determinado para o radical superóxido está de acordo com o papel protetor do óxido nítrico em situações de stress (Beckman e Koppenol, 1996).

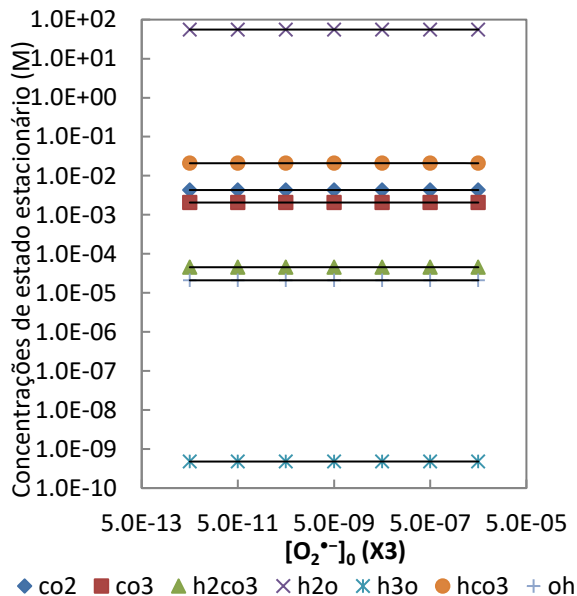




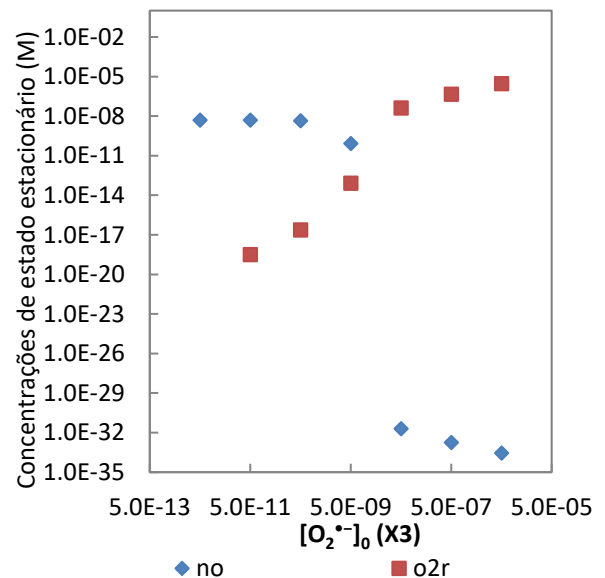
**Figura 12.** Coeficientes de controlo das concentrações das várias espécies pela concentração inicial de  $[NO^*]$

### 3.1.1.3 Variação da concentração inicial de radical anião superóxido

Para além de variar isoladamente a concentração inicial de óxido nítrico, variou-se também a concentração inicial de superóxido, sendo os resultados apresentados nas figuras seguintes. Tal como anteriormente, as concentrações das espécies envolvidas na tamponização do sangue e na auto-ionização da água não sofrem alterações quando se aumenta a concentração inicial de superóxido (Figura 13), e verifica-se que a concentração de estado estacionário do superóxido aumenta e a do óxido nítrico diminui (Figura 14), de modo análogo ao observado quando se aumentou a concentração inicial de óxido nítrico.

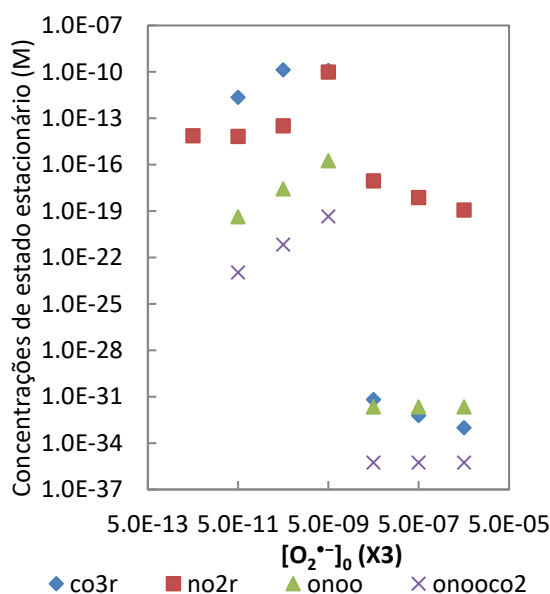


**Figura 13.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $CO_2$ ,  $CO_3^{2-}$ ,  $H_2CO_3$ ,  $H_2O$ ,  $H_3O^+$ ,  $HCO_3^-$  e  $OH^-$  em função da variação de  $[O_2^{\cdot-}]_0$

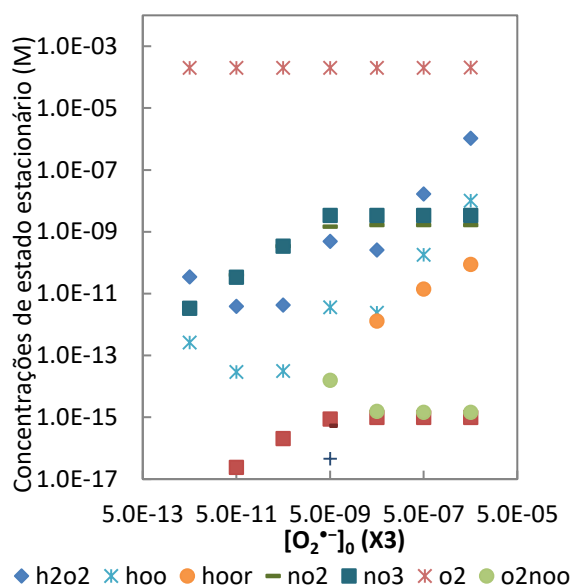


**Figura 14.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $NO^*$  e  $O_2^{\cdot-}$  em função da variação de  $[O_2^{\cdot-}]_0$

As concentrações das espécies na Figura 15, aumentam todas de forma linear até à concentração inicial de superóxido de 5 nM, diminuindo de seguida, apesar de pouco acentuadamente. Na Figura 16, o aumento da concentração inicial de superóxido leva ao aumento das concentrações de estado estacionário da maioria das espécies. A de oxigénio mantém-se constante pela mesma razão que nas secções anteriores. A concentração de estado estacionário do anião nitrato apresenta um aumento menor antes de se tornar constante pela mesma razão que na secção anterior. Só não são apresentados os valores de  $HNO_2$ ,  $HNO_3$ ,  $ONOOH$ ,  $N_2O_3$ ,  $N_2O_4$ ,  $NO_3^{2-}$ ,  $NO^+$ ,  $O_2NOOH$ ,  $OH^\bullet$  e  $NO_2^+$ , porque se mostraram inferiores a 1 fM.

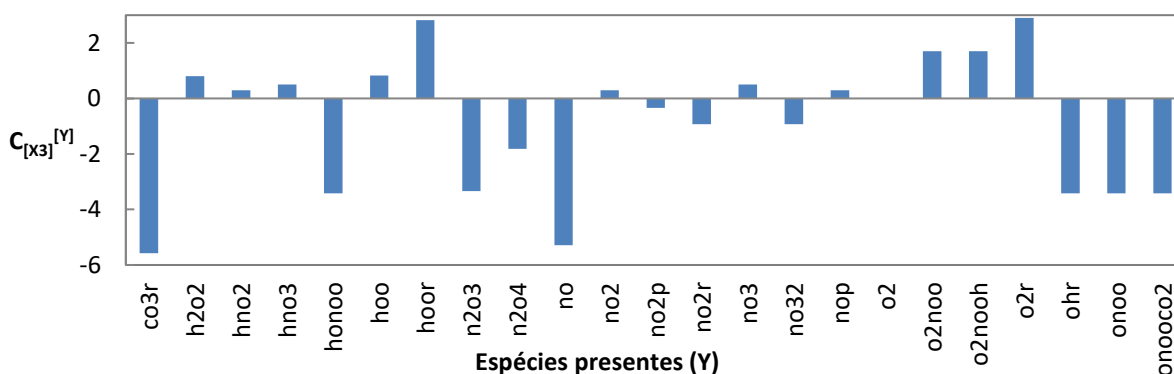


**Figura 15.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $\text{CO}_3^{3-}$ ,  $\text{NO}_2^*$ ,  $\text{ONOO}^-$  e  $\text{ONOOCO}_2^-$  em função da variação de  $[\text{O}_2^{*-}]_0$



**Figura 16.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{HO}_2^-$ ,  $\text{HO}_2^\bullet$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{O}_2$ , e  $\text{O}_2\text{NOO}^-$  em função da variação de  $[\text{O}_2^\bullet]_0$

Segundo a Figura 17, as espécies com os maiores coeficientes de controlo positivos são o  $O_2^{\bullet -}$  e o  $HO_2^{\bullet}$ , enquanto as que apresentam maiores coeficientes de controlo negativos são os radicais  $NO^{\bullet}$  e  $CO_3^{\bullet -}$ . Como seria de esperar a variação das concentrações de estado estacionário do óxido nítrico e do superóxido foi invertida em relação à secção anterior.



**Figura 17.** Coeficientes de controlo das concentrações das várias espécies pela concentração inicial de  $[O_2^{\cdot-}]$

Comparando os resultados obtidos com a variação isolada da concentração inicial de radical anião superóxido e de óxido nítrico, verifica-se que têm efeitos contrastantes, sendo que o aumento de óxido nítrico tem um menor efeito oxidante/nitrosante do que o aumento de superóxido.

### 3.1.2 VARIAÇÃO DAS VELOCIDADES DE PRODUÇÃO E DE CONSUMO DO ANIÃO NITROSOPEROXICARBONATO

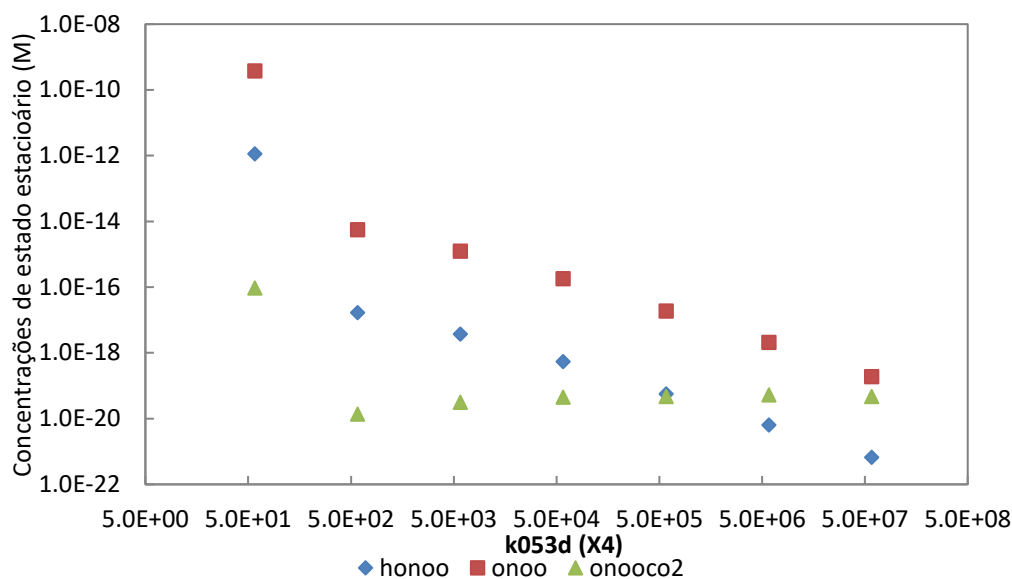
Uma das espécies oxidantes formadas em maior quantidade é o peroxinitrito,  $ONOO^-$ , que resulta da reação dos radicais óxido nítrico e superóxido. O peroxinitrito por si não tem um grande papel como oxidante, mas é capaz de reagir com o dióxido de carbono dissolvido nos fluidos biológicos, dando origem ao anião nitrosoperoxocarbonato,  $ONOOCO_2^-$ , que se decompõe a dois novos radicais com uma elevada atividade oxidante.

Para analisar o comportamento do sistema, variaram-se as velocidades de formação ( $k_{053d}$ ) e de consumo ( $k_{054d}$  e  $k_{055d}$ ) deste anião (equações 6 a 8), sendo os resultados apresentados nas figuras Figura 18 a Figura 21.

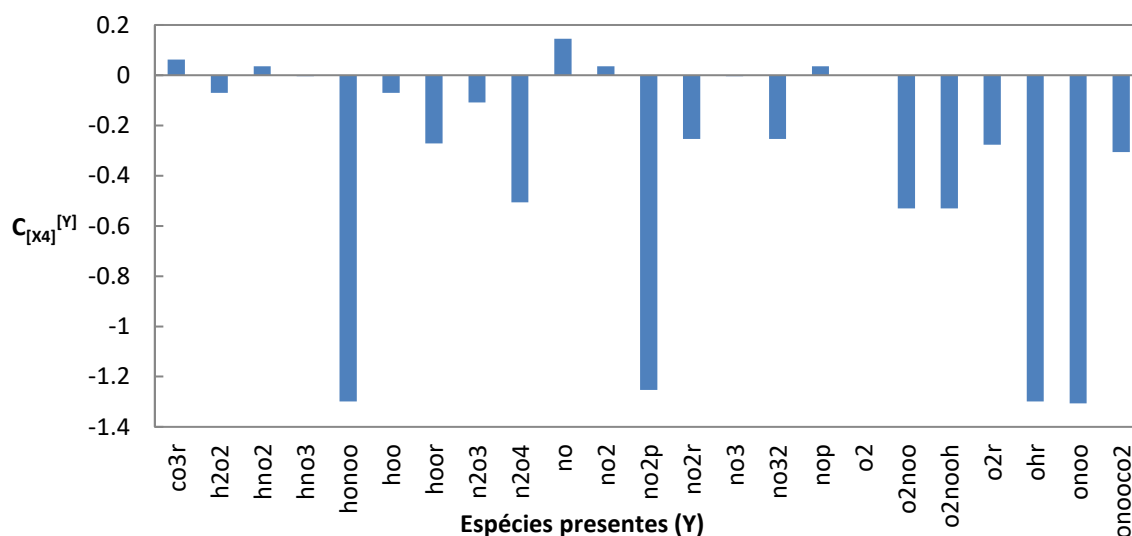


Na Figura 18 verifica-se que ao aumentar a velocidade de produção de nitrosoperoxocarbonato,  $ONOOCO_2^-$ , diminui a concentração de peroxinitrito, um dos reagentes da reação, bem como do seu ácido conjugado,  $ONOOH$ . Contudo, não há um aumento sustentado da concentração de estado estacionário de  $ONOOCO_2^-$ .

Segundo a Figura 19, a maioria das espécies apresenta coeficientes de controlo negativos. A espécie com maior coeficiente de controlo positivo é  $NO^*$ , enquanto as que apresentam maior coeficientes de controlo negativos são  $ONOO^-$  (e espécies derivadas),  $NO_2^+$  e  $OH^*$ . O nitrosoperoxocarbonato apresenta um pequeno decréscimo porque a concentração de estado estacionário desceu ligeiramente antes de ficar constante, e como seria de esperar as do ácido peroxonitroso e do peroxinitrito apresentam elevados coeficientes de controlo negativos, mostrando uma descida abrupta das concentrações. Verifica-se também que a concentração do radical hidroxilo é negativamente afetada pela velocidade de formação de  $ONOOCO_2^-$ , confirmando que a formação do nitrosoperoxocarbonato tem um efeito modulador sobre as concentrações de espécies oxidantes e nitrosantes provocando uma alteração da reatividade do sistema (Beckman e Koppenol, 1996; Pacher *et al.*, 2013).

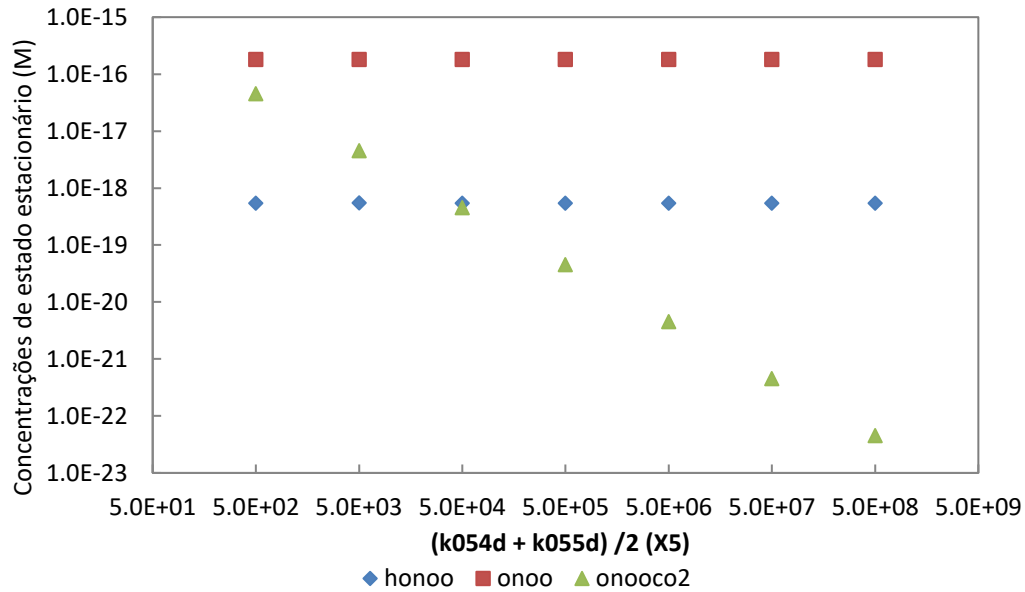


**Figura 18.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $\text{ONOOH}$ ,  $\text{ONOO}^-$  e de  $\text{ONOOCO}_2^-$  em função da variação da velocidade de produção de  $\text{ONOOCO}_2^-$  ( $k_{053d}$ )



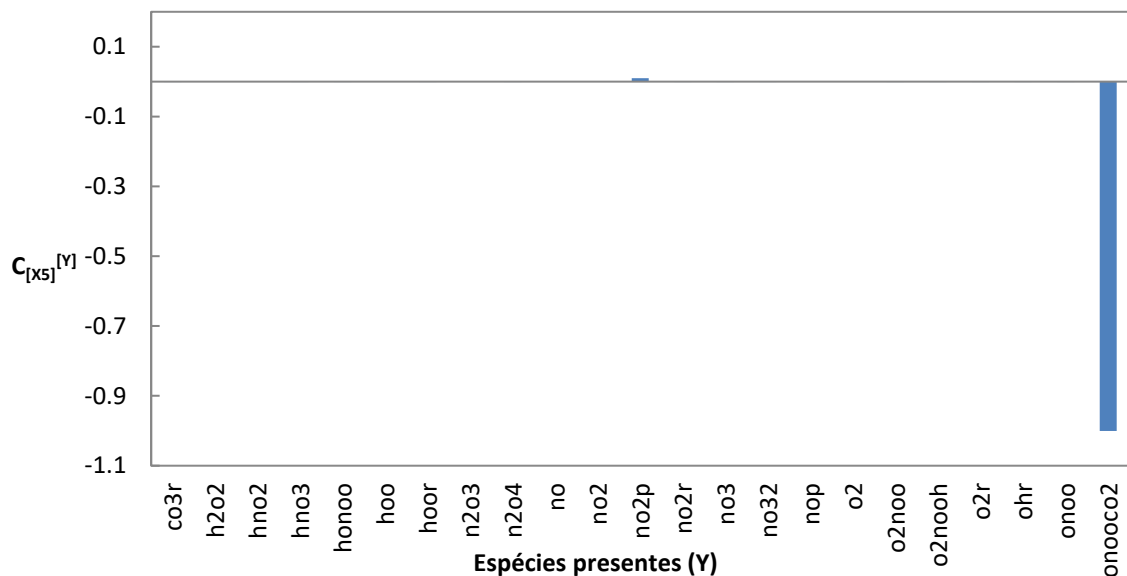
**Figura 19.** Coeficientes de controle das concentrações das várias espécies pela velocidade de produção de  $\text{ONOOCO}_2^-$  ( $k_{053d}$ )

Na Figura 20 verifica-se que ao aumentar a velocidade de consumo de nitrosoperoxocarbonato, a concentração de estado estacionário deste desce consideravelmente, conforme esperado, enquanto as de ácido peroxonitroso e de peroxinitrito mantêm-se constantes. Esta demonstração revela-se de uma forma análoga à da variação de  $k_{053d}$ .

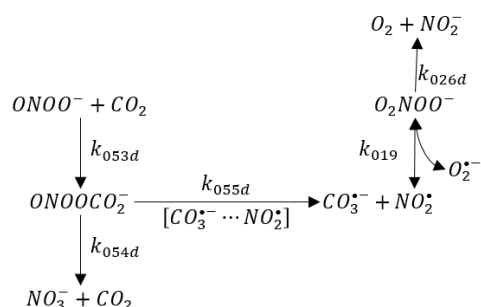


**Figura 20.** Variação das concentrações de estado estacionário de ONOOH, ONOO<sup>-</sup> e de ONOOCO<sub>2</sub><sup>-</sup> em função da variação da velocidade de consumo de ONOOCO<sub>2</sub><sup>-</sup>  $((k_{054d} + k_{055d}) / 2)$

Segundo a Figura 21, a maioria das espécies apresenta baixos coeficientes de controlo, sendo que apenas a concentração de estado estacionário de ONOOCO<sub>2</sub><sup>-</sup> é significativamente afetada pela variação da velocidade destas reações. O anião peroxonitrato, O<sub>2</sub>N<sup>-</sup>, tal como o anião nitrosoperoxocarbonato, ONOOCO<sub>2</sub><sup>-</sup>, decompõem-se dando origem pares de radicais com diferentes reatividades (Figura 22), e o aumento da concentração de radical NO<sub>2</sub><sup>•</sup> leva diretamente à formação de O<sub>2</sub>N<sup>-</sup>, que se decompõe originando o anião radical hidroxilo. Este conjunto de reações tem como consequência a mudança de reatividade entre vias de carácter nitrosante e vias de carácter oxidante (Goldstein *et al.*, 1998).



**Figura 21.** Coeficientes de controlo das concentrações das várias espécies pela velocidade de consumo de ONOOCO<sub>2</sub><sup>-</sup>  $((k_{054d} + k_{055d}) / 2)$



**Figura 22.** Formação e decomposição dos aniões peroxonitrato,  $\text{O}_2\text{NOO}^-$ , e nitrosoperoxocarbonato,  $\text{ONOOOCO}_2^-$

### 3.2 MODELO COMPLETO

Após se ter verificado que o modelo constituído apenas pelas espécies oxidantes era válido, foram adicionadas ao modelo as reações correspondentes ao papel antioxidante do ascorbato e do tocoferol, bem como da peroxidação lipídica, tendo-se feito uma análise análoga à anterior, variando os parâmetros seleccionados.

#### 3.2.1 ANÁLISE INICIAL DO SISTEMA NÃO PERTURBADO

Após a construção do modelo matemático, em que se implementaram no simulador JWS Online (<https://jij.bio.vu.nl/>) todas as reações e respetivos parâmetros foram analisados os valores das concentrações de estado estacionário do sistema (Tabela 2).

**Tabela 2.** Concentrações padrão de estado estacionário de todas as espécies envolvidas no modelo completo

Concentrações padrão das espécies reativas e antioxidantes envolvidas no modelo (M)						
<i>Asc</i>	<i>AscH<sup>-</sup></i>	<i>AscH<sup>•</sup></i>	<i>Asc<sup>•-</sup></i>	<i>CO<sub>2</sub></i>	<i>CO<sub>3</sub><sup>2-</sup></i>	<i>CO<sub>3</sub><sup>•-</sup></i>
$7,58 \times 10^{-14}$	$1,00 \times 10^{-9}$	$3,21 \times 10^{-17}$	$8,08 \times 10^{-14}$	0,0043	0,0021	$5,08 \times 10^{-10}$
<i>DHA</i>	<i>Fe<sup>2+</sup></i>	<i>Fe<sup>3+</sup></i>	<i>H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></i>	<i>H<sub>2</sub>O</i>	<i>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></i>	<i>H<sub>3</sub>O<sup>+</sup></i>
$2,10 \times 10^{-17}$	$1,00 \times 10^{-7}$	$2,71 \times 10^{-12}$	$4,54 \times 10^{-5}$	55,5643	$1,56 \times 10^{-10}$	$4,78 \times 10^{-10}$
<i>HCO<sub>3</sub><sup>-</sup></i>	<i>HNO<sub>2</sub></i>	<i>HNO<sub>3</sub></i>	<i>ONOOH</i>	<i>HO<sub>2</sub><sup>-</sup></i>	<i>HO<sub>2</sub><sup>•</sup></i>	<i>LH</i>
0,0209	$7,54 \times 10^{-16}$	$7,56 \times 10^{-20}$	$9,64 \times 10^{-19}$	$1,16 \times 10^{-12}$	$1,87 \times 10^{-18}$	2,00

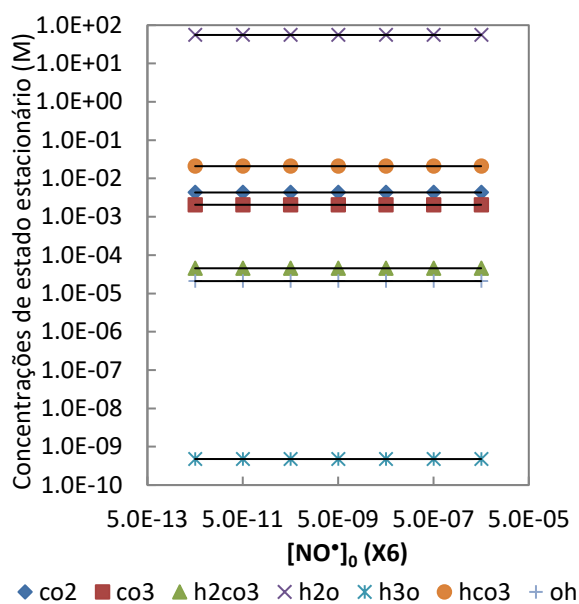
$LOH$	$LOO^-$	$LOOH$	$LOO^\bullet$	$LO^\bullet$	$L^\bullet$	$N_2O_3$
$2,56 \times 10^{-13}$	$2,16 \times 10^{-15}$	$1,32 \times 10^{-9}$	$3,27 \times 10^{-12}$	$6,40 \times 10^{-19}$	$9,91 \times 10^{-15}$	$1,28 \times 10^{-17}$
$N_2O_4$	$NO^\bullet$	$NO_2^-$	$NO_2^+$	$NO_2^\bullet$	$NO_3^-$	$NO_3^{2-}$
$6,71 \times 10^{-18}$	$2,07 \times 10^{-10}$	$1,26 \times 10^{-9}$	$1,05 \times 10^{-37}$	$1,09 \times 10^{-11}$	$3,52 \times 10^{-9}$	$4,30 \times 10^{-23}$
$NO^+$	$O_2$	$O_2NOO^-$	$O_2NOOH$	$O_2^{\bullet-}$	$O_3$	$O_3^{\bullet-}$
$3,44 \times 10^{-35}$	0,0002	$1,29 \times 10^{-15}$	$3,86 \times 10^{-19}$	$5,77 \times 10^{-14}$	0,00	0,00
$OH^-$	$OH^\bullet$	$ONOO^-$	$ONOOCO_2^-$	$O^{\bullet-}$	$TocOH$	$TocO^\bullet$
$2,10 \times 10^{-5}$	$3,12 \times 10^{-22}$	$3,21 \times 10^{-16}$	$8,01 \times 10^{-20}$	0,00	0,0007	$6,12 \times 10^{-11}$

Da análise dos valores apresentados, verifica-se que as concentrações de estado estacionário de  $CO_2$ ,  $CO_3^{2-}$ ,  $H_2CO_3$ ,  $H_2O$ ,  $HCO_3^-$ ,  $LH$  e  $O_2$  não sofrem alterações significativas conforme esperado, e que, na ausência de perturbações, as espécies reativas presentes em maior concentração são, na gama de 0,1 a 1 nM, o  $NO^\bullet$  e o  $CO_3^{\bullet-}$ ; de 1 pM a 0,1 nM encontramos  $LOO^\bullet$ ,  $NO_2^\bullet$  e  $NO_2^-$ . Esta observação está genérica, de acordo com a importância atribuída às diferentes espécies reativas, sendo as mais importantes o  $H_2O_2$ , o  $LOO^\bullet$ , o  $NO^\bullet$ , e o  $O_2^{\bullet-}$ , bem como o  $CO_3^{\bullet-}$  e o  $NO_2^\bullet$  derivados da decomposição de  $ONOOCO_2^-$  (Beckman e Koppenol, 1996; Pacher *et al*, 2013).

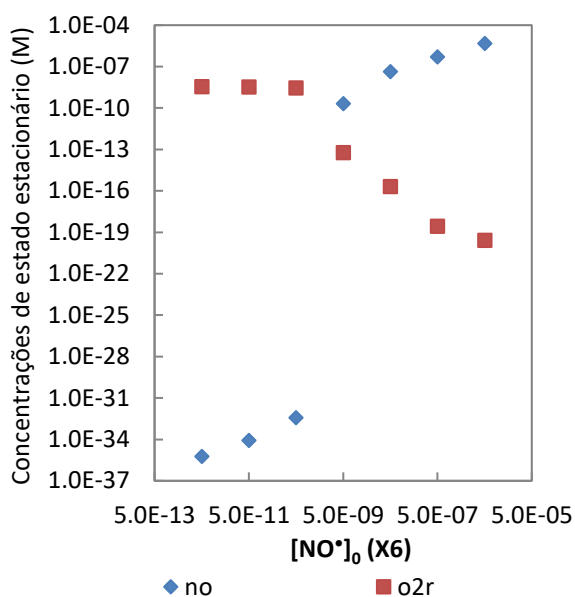
### 3.2.2 VARIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INICIAL DE ÓXIDO NÍTRICO

Numa primeira abordagem, variou-se a concentração inicial de óxido nítrico, apresentando-se os resultados nas figuras Figura 23 a Figura 33.

Tal como no modelo sem antioxidantes, verifica-se que as concentrações de estado estacionário das espécies tamponantes bem como as de  $H_2O$ ,  $H_3O^+$  e  $OH^-$ , não são afetadas pela concentração inicial de óxido nítrico (Figura 23). Por outro lado, o aumento da concentração inicial de óxido nítrico leva também a uma diminuição da concentração de estado estacionário de superóxido (Figura 1) (Wink *et al.*, 2001). Note-se, contudo, que as espécies  $H_3O^+$  e  $OH^-$  apresentam também valores não fisiológicos, tal como observado anteriormente.



**Figura 23.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $CO_2$ ,  $CO_3^{2-}$ ,  $H_2CO_3$ ,  $H_2O$ ,  $H_3O^+$ ,  $HCO_3^-$  e  $OH^-$  em função da variação de  $[NO^\bullet]_0$



**Figura 24.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $NO^\bullet$  e  $O_2^{\bullet-}$  em função da variação de  $[NO^\bullet]_0$

O aumento da concentração inicial de óxido nítrico traduz-se inevitavelmente no aumento das concentrações de estado estacionário das espécies derivadas do  $NO^\bullet$  (Figura 25), bem como de nitrato (Figura 26), considerado o produto final da degradação de espécies reativas de azoto. Observa-se também que a concentração de radical hidroperoxilo, e espécies dele derivadas praticamente não variam (Figura 26), pelo que não há nenhum aumento de stress oxidativo associado ao aumento da disponibilidade de óxido nítrico. No caso de  $HNO_3$ ,  $N_2O_4$ ,  $NO_2^+$ ,  $NO^+$ ,  $O_2NOOH$  e  $OH^\bullet$ , estas espécies não surgem na Figura porque as suas concentrações de estado estacionário são inferiores a 1 fM, assumindo-se que não serão relevantes biologicamente.

Em relação às concentrações de estado estacionário de antioxidantes, o aumento da concentração inicial de óxido nítrico leva a uma diminuição da concentração das espécies radiculares derivadas de ascorbato e de tocoferol (Figura 27 e Figura 28), apesar de não haver nenhuma reação direta entre o óxido nítrico e os antioxidantes. Para compreender melhor esta observação, analisaram-se as velocidades das reações do sistema com estes valores das concentrações iniciais de óxido nítrico (Figura 29 e Figura 30).

Para tal definiram-se as seguintes velocidades globais de consumo de ascorbato,  $v_{asch}$ , e de tocoferol,  $v_{toco}$ , bem como a velocidade global de formação de lipoperóxidos,  $v_{looh}$ , a partir das reações envolvidas nestes processos:

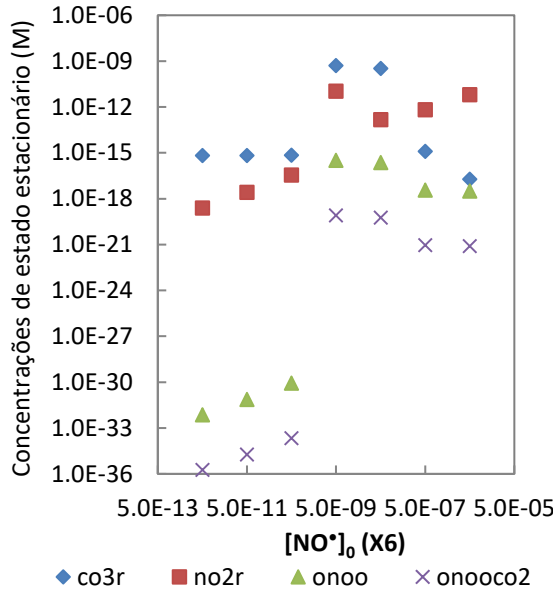
$$v_{asch} = \sum(\text{reações 88 a 90, 106 a 114}) - \sum(\text{reações 91 e 117}) \quad (9)$$

$$v_{toco} = \sum(\text{reações 100 a 103}) - \sum(\text{reações 104 a 106}) \quad (10)$$

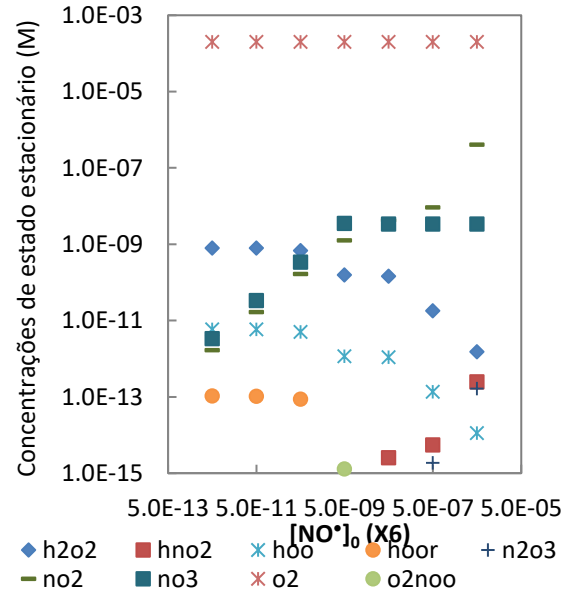
$$v_{looh} = \sum(\text{reações 95, 100 e 107}) - \sum(\text{reações 97 e 98}) \quad (11)$$



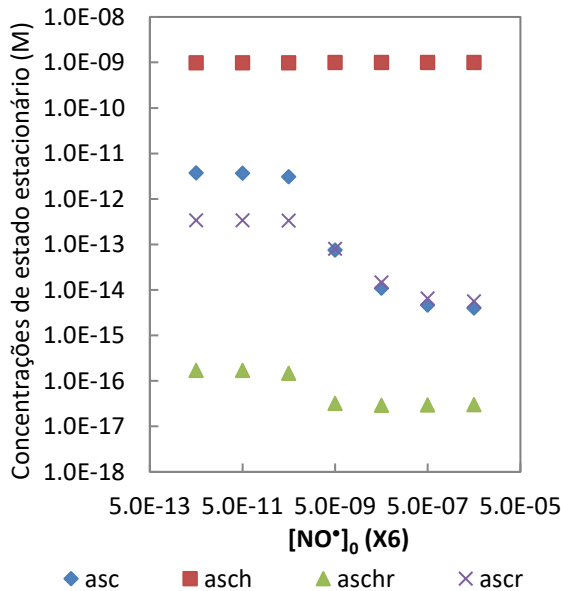
O aumento da concentração inicial de óxido nítrico reduz a velocidade das reações de consumo de ascorbato (Figura 29) e de tocoferol (Figura 30), bem como peroxidação lipídica (Figura 31), o que está de acordo com o papel protetor atribuído ao óxido nítrico - como a um aumento da concentração inicial de óxido nítrico vai corresponder uma diminuição da disponibilidade de radical anião superóxido, há menor formação de espécies oxidantes e, conseqüentemente, menor necessidade de consumo de antioxidantes.



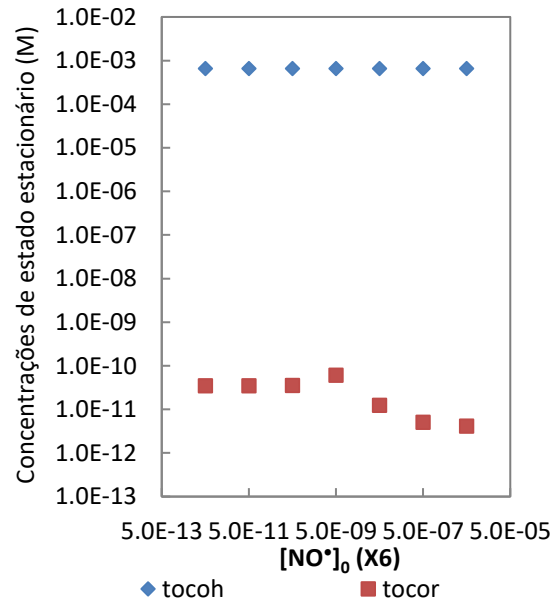
**Figura 25.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $CO_3^{\bullet-}$ ,  $NO_2^\bullet$ ,  $ONOO^\bullet$  e  $ONOOCO_2^\bullet$  em função da variação de  $[NO^\bullet]_0$



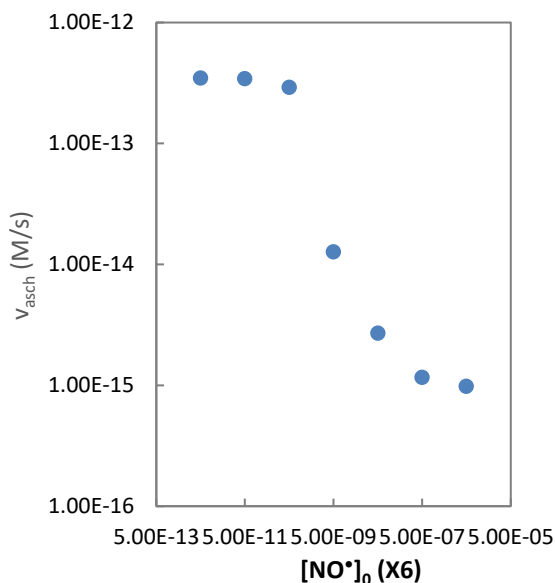
**Figura 26.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $H_2O_2$ ,  $HNO_2$ ,  $HO_2^\bullet$ ,  $HO_2^{\bullet-}$ ,  $N_2O_3$ ,  $NO_2^\bullet$ ,  $NO_3^\bullet$ ,  $O_2$  e de  $O_2NOO^\bullet$  em função da variação de  $[NO^\bullet]_0$



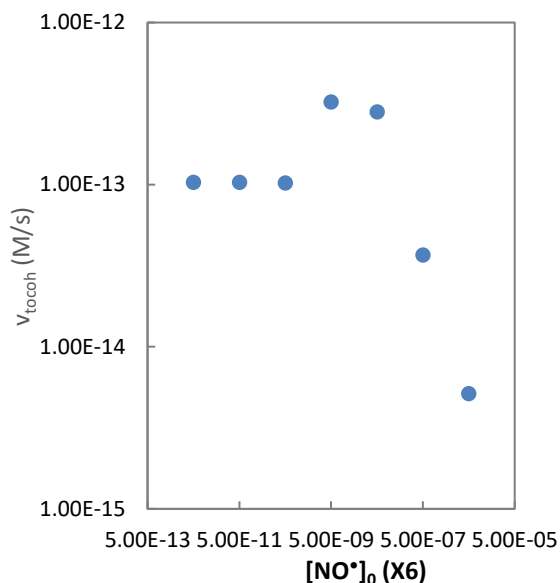
**Figura 27.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $Asc$ ,  $AsCH^\bullet$ ,  $AsCH^\bullet$  e de  $Asc^{\bullet-}$  em função da variação de  $[NO^\bullet]_0$



**Figura 28.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $TocOH$  e de  $TocO^\bullet$  em função da variação de  $[NO^\bullet]_0$

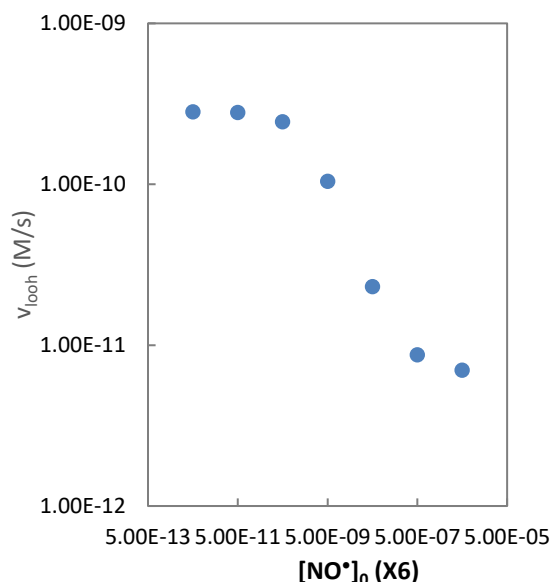


**Figura 29.** Variação da velocidade de consumo de  $Asch^-$  em função da variação de  $[NO^\bullet]_0$

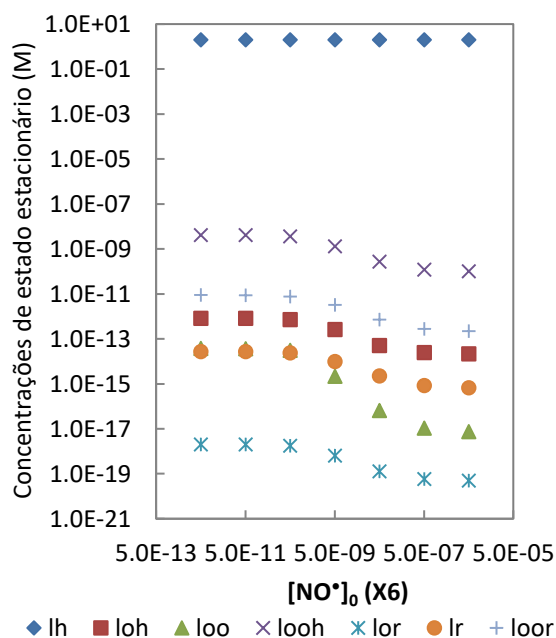


**Figura 30.** Variação da velocidade de consumo de TocOH em função da variação de  $[NO^\bullet]_0$

O efeito antioxidante do óxido nítrico aparece também na peroxidação lipídica, em que se observa que um aumento da concentração inicial de óxido nítrico (Figura 32) leva a uma diminuição de todas as espécies resultantes da oxidação de lípidos. Novamente, o óxido nítrico não participa diretamente na oxidação lipídica, mas da análise das velocidades das reações feita ao lado verifica-se que o aumento do óxido nítrico reduz a velocidade de formação do lipohidroperóxido e, conseqüentemente, as suas derivadas, de acordo com o efeito global protetor atribuído ao  $NO^\bullet$  (Beckman e Koppenol, 1996; Pacher *et al*, 2013).

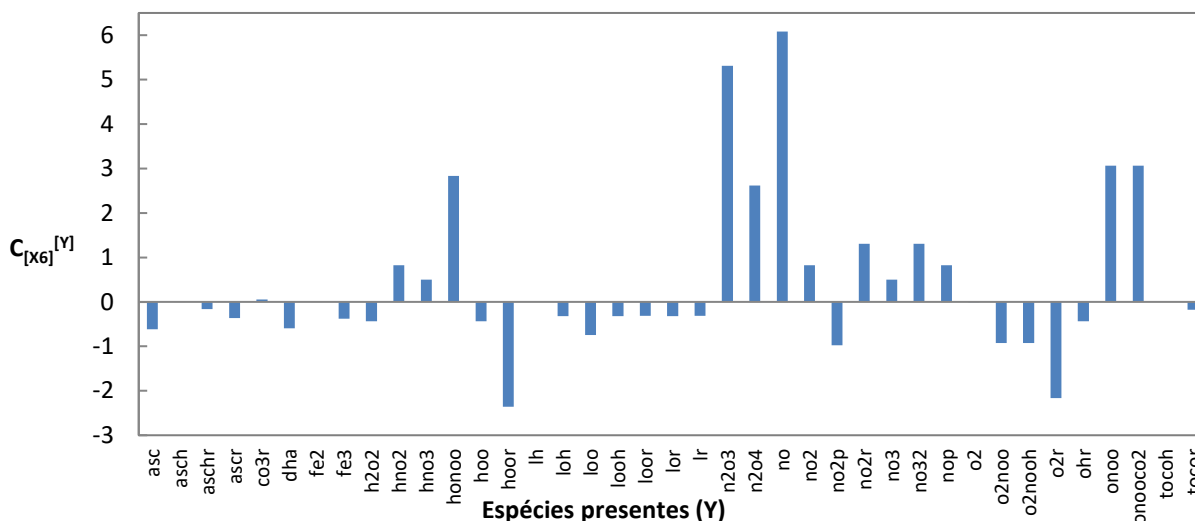


**Figura 31.** Variação da velocidade de formação de LOOH em função da variação de  $[NO^\bullet]_0$



**Figura 32.** Variação das concentrações de estado estacionário de LH, LOH,  $LOO^-$ , LOOH,  $LO^\bullet$ ,  $L^\bullet$  e de  $LOO^\bullet$  em função da variação de  $[NO^\bullet]_0$

De acordo com os resultados apresentados na Figura 33, as espécies com os maiores coeficientes de controlo positivos são o próprio  $NO^*$ , o  $N_2O_3$  e o  $N_2O_4$ , bem como o peroxinitrito e espécies derivadas; enquanto as com maiores coeficientes de controlo negativos são o  $O_2^{\bullet-}$  e o  $HO_2^*$ . Tal como na análise sem antioxidantes, o coeficiente de controlo de óxido nítrico é alto e positivo enquanto que o de superóxido é negativo, mas vê-se que o aumento da concentração de estado estacionário do trióxido de diazoto é próximo ao de óxido nítrico. A razão disso é que o radical variável ao reagir com o radical nitrito dá origem à dita espécie (reação 23).

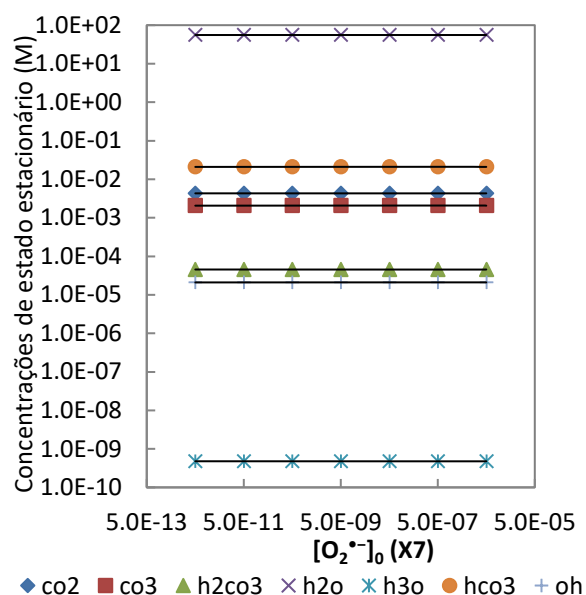


**Figura 33.** Coeficientes de controlo entre espécies resultante da variação de  $[NO^*]$

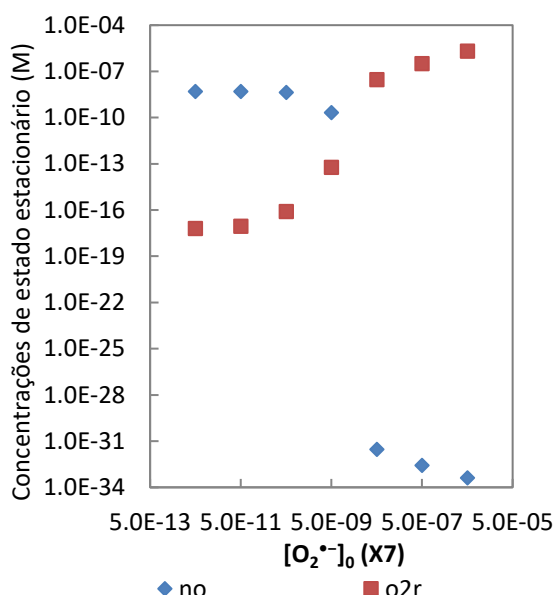
### 3.2.3 VARIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INICIAL DE RADICAL ANIÃO SUPERÓXIDO

De seguida, estudou-se o efeito da variação da concentração inicial do radical anião superóxido sobre as concentrações de estado estacionário das espécies presentes no sistema, sendo os resultados apresentados nas figuras Figura 34 a Figura 44.

Neste caso, verifica-se também que o sistema de tamponamento, bem como  $H_2O$ ,  $H_3O^+$  e  $OH^-$ , mantêm-se inalteradas (Figura 34), e que o aumento da concentração inicial de superóxido provoca o mesmo efeito antagonístico sobre a concentração de estado estacionário de óxido nítrico previamente observado (Figura 35). No caso do  $ONOO^-$ ,  $ONOO_2^-$ ,  $CO_3^{\bullet-}$  e  $NO_2^*$ , verifica-se contudo uma diminuição das respetivas concentrações. (Figura 36).

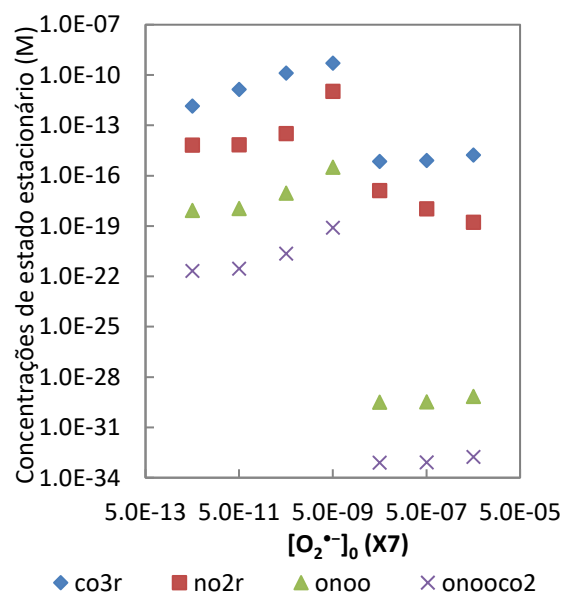


**Figura 34.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{H}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_3\text{O}^+$ ,  $\text{HCO}_3^-$  e  $\text{OH}^-$  em função da variação de  $[\text{O}_2^{\bullet}]_0$

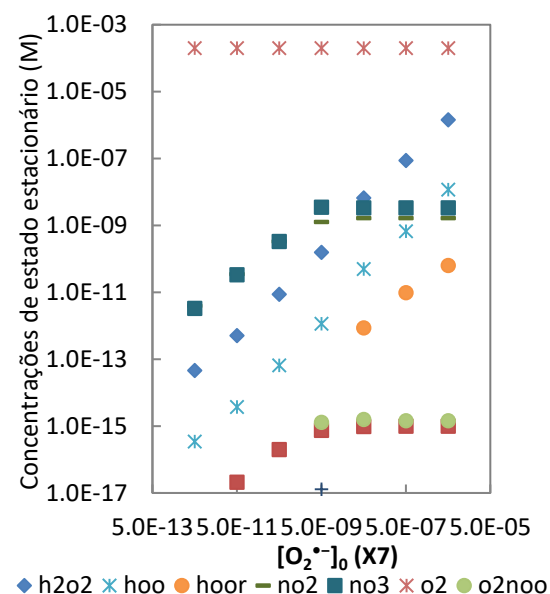


**Figura 35.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $\text{NO}^{\bullet}$  e  $\text{O}_2^{\bullet}$  em função da variação de  $[\text{O}_2^{\bullet}]_0$

O aumento da concentração inicial de superóxido (Figura 37) leva a uma variação das concentrações de estado estacionário das restantes espécies reativas. A concentração do nitrato aumenta como resultado da decomposição do peroxinitrito, cuja concentração aumenta com a variação do superóxido. As concentrações do peróxido de hidrogénio e da sua derivada aumentam devido à reação entre o superóxido e a água, e as concentrações do anião hidroperóxido e do radical hidroperóxido, bem como de peroxonitrato (reação 22), também aumentam, à reação ácido-base com o  $\text{H}_2\text{O}_2$  (reação 10) e o  $\text{O}_2\text{NOOH}$ , respetivamente.

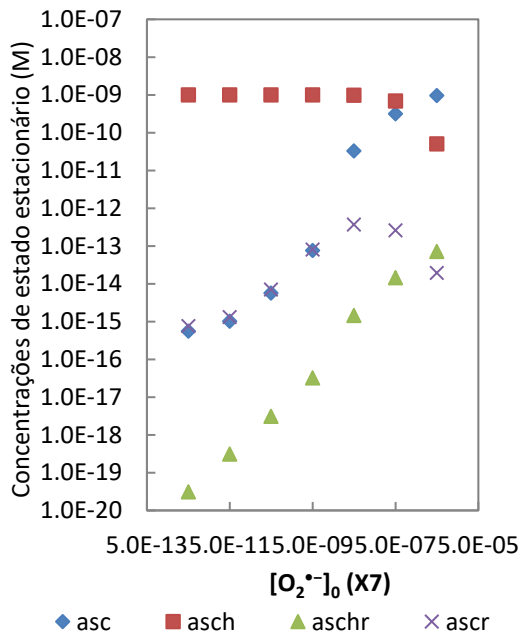


**Figura 36.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $\text{CO}_3^{\bullet-}$ ,  $\text{NO}_2^{\bullet}$ ,  $\text{ONOO}^-$  e  $\text{ONOOCO}_2^-$  em função da variação de  $[\text{O}_2^{\bullet}]_0$

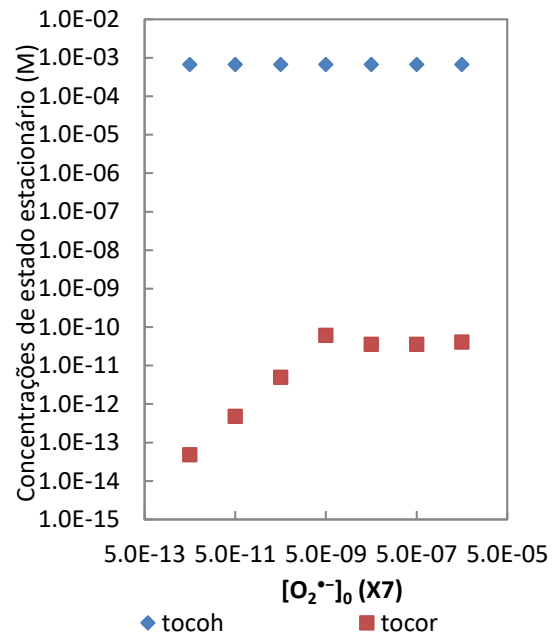


**Figura 37.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{HO}_2^-$ ,  $\text{HO}_2^{\bullet}$ ,  $\text{NO}_2^{\bullet}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{O}_2$  e  $\text{O}_2\text{NOO}^-$  em função da variação de  $[\text{O}_2^{\bullet}]_0$

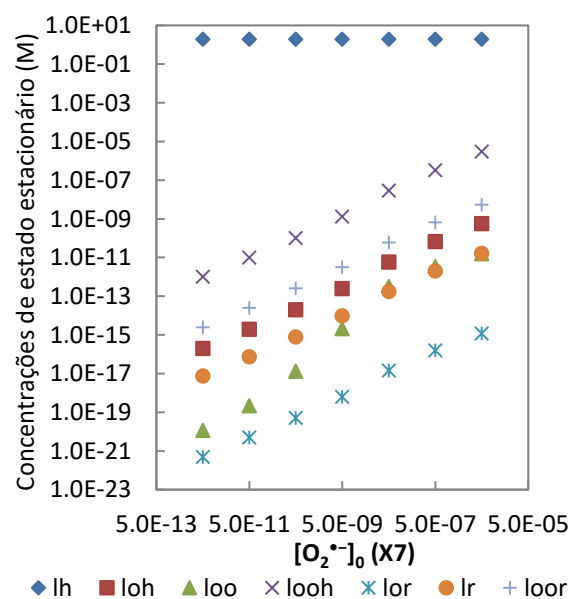
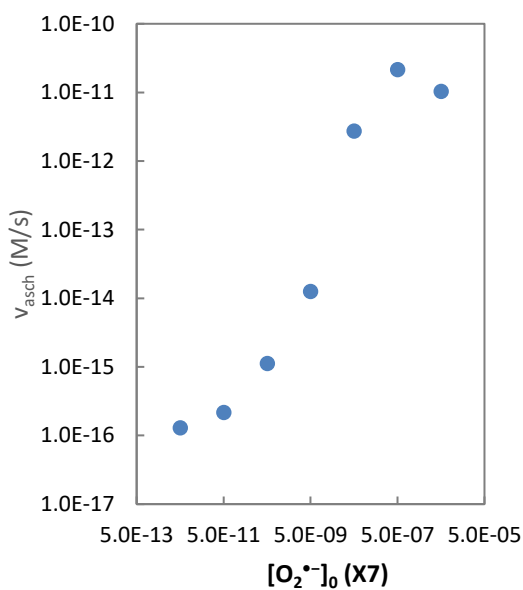
No entanto, quando se analisam as concentrações de estado estacionário das espécies antioxidantes, verifica-se que a concentração das espécies radiculares derivadas do ascorbato e do tocoferol aumenta (Figura 38 e Figura 39), o que mostra um aumento do teor em espécies reativas no sistema. Já no caso da peroxidação lipídica, verifica-se que a concentração de estado estacionário dos vários produtos de oxidação lipídica aumenta com o aumento da concentração inicial de superóxido (Figura 41). Estes dois conjuntos de resultados são opostos aos observados com o aumento da concentração inicial de óxido nítrico, o que permite considerar o óxido nítrico como tendo um efeito global protetor enquanto o superóxido tem um efeito global oxidante (Beckman e Koppenol, 1996).

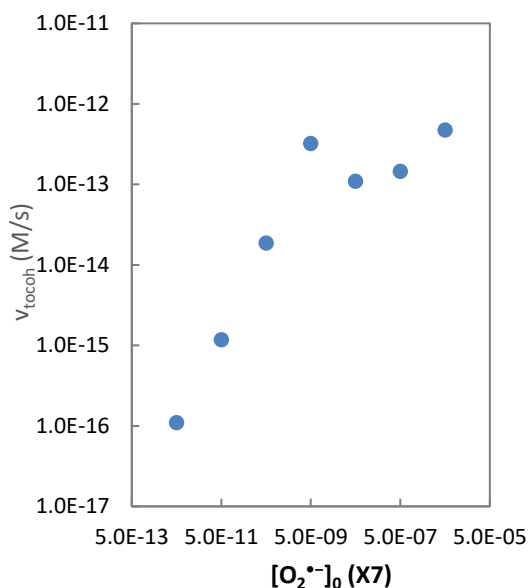
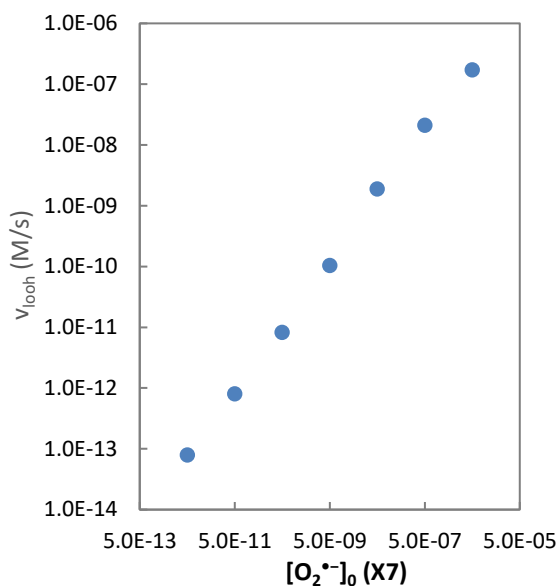


**Figura 38.** Variação das concentrações de estado estacionário de Asc, AscH<sup>-</sup>, AscH<sup>+</sup> e de Asc<sup>-</sup> em função da variação de  $[O_2^{\cdot-}]_0$

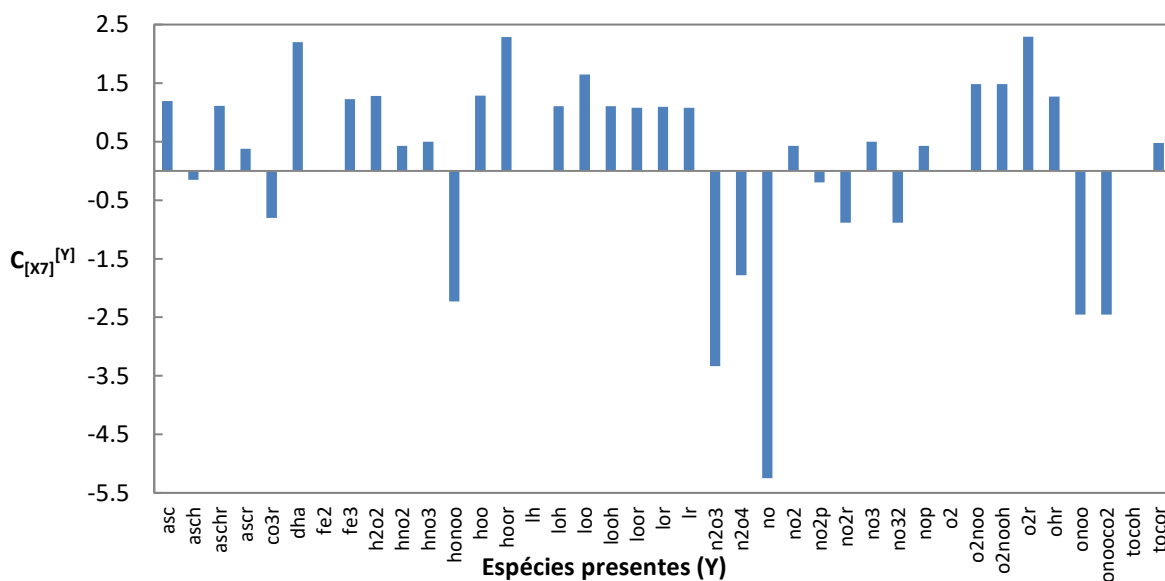


**Figura 39.** Variação das concentrações de estado estacionário de TocOH e de TocO<sup>-</sup> em função da variação de  $[O_2^{\cdot-}]_0$



**Figura 40.** Variação da velocidade de consumo de  $\text{AsCH}^-$  em função da variação de  $[\text{O}_2^{\bullet-}]_0$ **Figura 42.** Variação da velocidade de consumo de  $\text{TocOH}$  em função da variação de  $[\text{O}_2^{\bullet-}]_0$ **Figura 41.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $\text{LH}$ ,  $\text{LOH}$ ,  $\text{LOO}^-$ ,  $\text{LOOH}$ ,  $\text{LO}^\bullet$ ,  $\text{L}^\bullet$  e de  $\text{LOO}^\bullet$  em função da variação de  $[\text{O}_2^{\bullet-}]_0$ **Figura 43.** Variação da velocidade de formação de  $\text{LOOH}$  em função da variação de  $[\text{O}_2^{\bullet-}]_0$ 

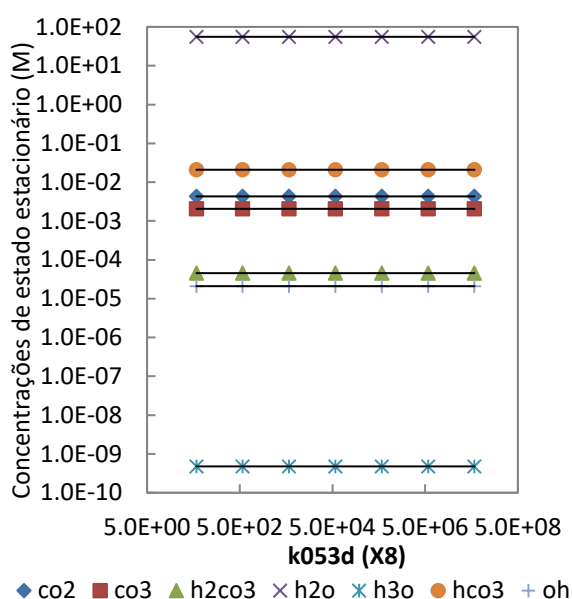
Segundo a Figura 44, as espécies com os maiores coeficientes de controlo positivos são o superóxido, o produto acumulado ( $\text{DHA}$ ) (reações 91 e 96), o  $\text{HO}_2^\bullet$  e o  $\text{LOO}^-$ , o  $\text{LOO}^-$  é um produto de oxidação lipídica, enquanto as com maiores coeficientes de controlo negativos são o  $\text{NO}^\bullet$ , como era de esperar, o  $\text{N}_2\text{O}_3$  que é formado numa reação com o óxido nítrico, conforme foi referido acima (Beckman e Koppenol, 1996), o peroxinitrito e as suas espécies derivadas.

**Figura 44.** Coeficientes de controlo das concentrações das várias espécies pela concentração inicial de  $[\text{O}_2^{\bullet-}]$

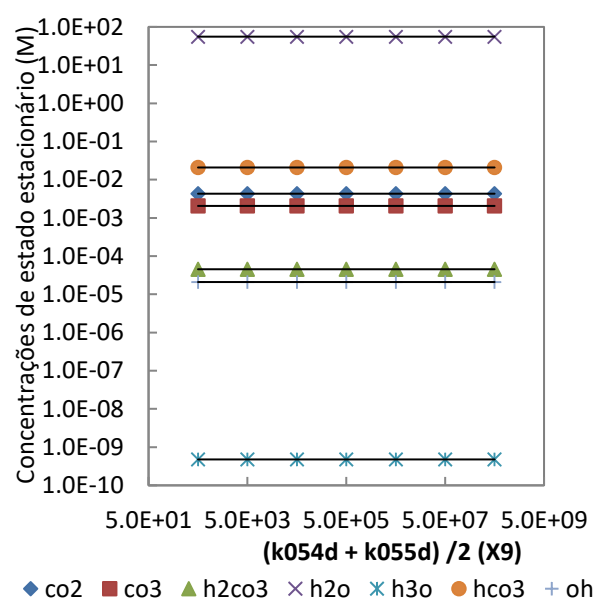
### 3.2.4 VARIAÇÃO DAS VELOCIDADES DE PRODUÇÃO E DE CONSUMO DO ANIÃO NITROSOPEROXOCARBONATO

Para estudar o papel modulador do peroxinitrito sobre o sistema, variaram-se as velocidades das reações que formam ( $k_{053d}$ ) e consomem ( $k_{054d}$  e  $k_{055d}$ ) o anião nitrosoperoxocarbonato, sendo os resultados apresentados nas figuras Figura 45 a Figura 66.

Nas figuras Figura 45 e Figura 46, as concentrações de estado estacionário das espécies de tamponamento no sangue bem como as de  $H_2O$ ,  $H_3O^+$  e  $OH^-$  mantêm-se inalteradas com o aumento da velocidade quer seja de formação ou de consumo do nitrosoperoxocarbonato.

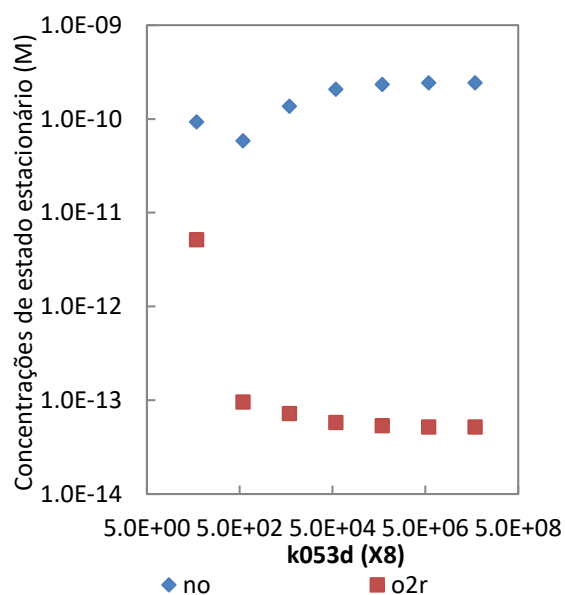


**Figura 45.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $CO_2$ ,  $CO_3^{2-}$ ,  $H_2CO_3$ ,  $H_2O$ ,  $H_3O^+$ ,  $HCO_3^-$  e  $OH^-$  em função da variação da velocidade de produção de  $ONOOCO_2^-$  ( $k_{053d}$ )

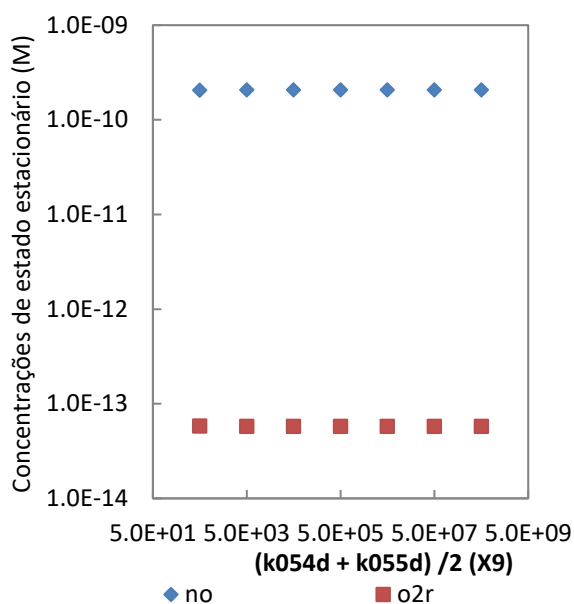


**Figura 46.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $CO_2$ ,  $CO_3^{2-}$ ,  $H_2CO_3$ ,  $H_2O$ ,  $H_3O^+$ ,  $HCO_3^-$  e  $OH^-$  em função da variação da velocidade de consumo de  $ONOOCO_2^-$   $((k_{054d} + k_{055d}) / 2)$

Na Figura 47, o aumento da velocidade de formação de  $ONOOCO_2^-$  leva ao aumento da concentração de estado estacionário de óxido nítrico ao mesmo tempo que diminui a de superóxido. Enquanto isso, na Figura 48 as concentrações das duas espécies quase não variam.

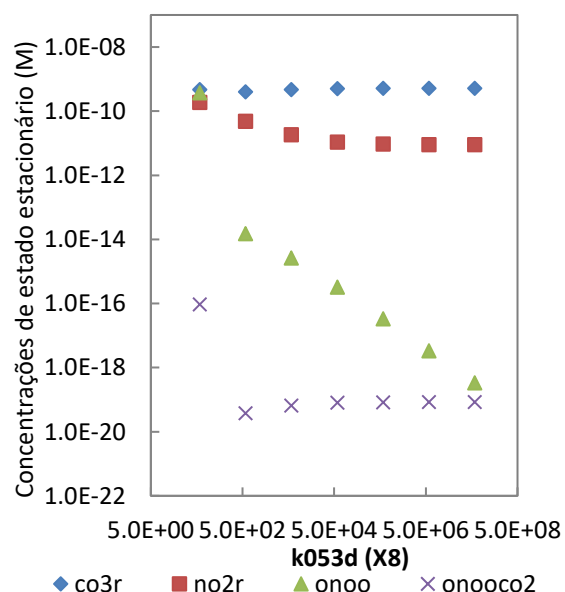


**Figura 47.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $\text{NO}^*$  e  $\text{O}_2^{*-}$  em função da variação da velocidade de produção de  $\text{ONOOCO}_2^-$  ( $k_{053d}$ )

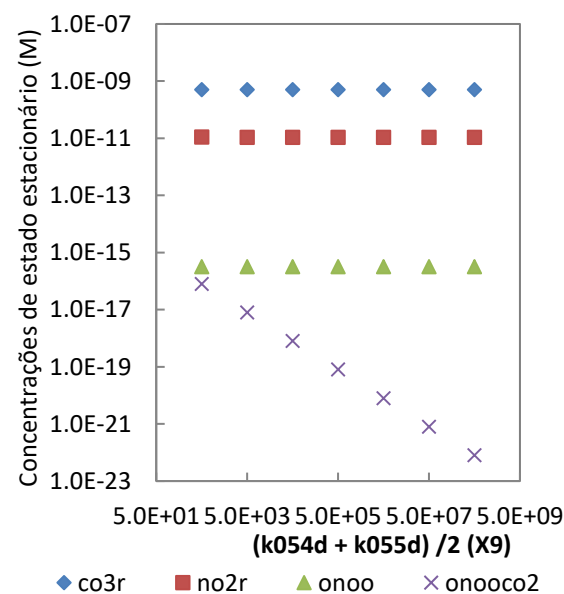


**Figura 48.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $\text{NO}^*$  e  $\text{O}_2^{*-}$  em função da variação da velocidade de consumo de  $\text{ONOOCO}_2^-$   $((k_{054d} + k_{055d}) / 2)$

Na Figura 49 observamos que a concentração de  $\text{ONOOCO}_2^-$  se mantém praticamente estável, e, conseqüentemente, as concentrações de  $\text{CO}_3^{*-}$  e de  $\text{NO}_2^*$ , radicais produzidos na decomposição de  $\text{ONOOCO}_2^-$ , apresentam uma variação pouco acentuada. Por outro lado, as concentrações de  $\text{ONOOCO}_2^-$  diminuem conforme esperado, devido ao aumento da velocidade de degradação (Figura 50), enquanto que as das restantes espécies se mantêm constantes, tal como verificado anteriormente (Figura 20).



**Figura 49.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $\text{CO}_3^{*-}$ ,  $\text{NO}_2^*$ ,  $\text{ONOO}^-$  e  $\text{ONOOCO}_2^-$



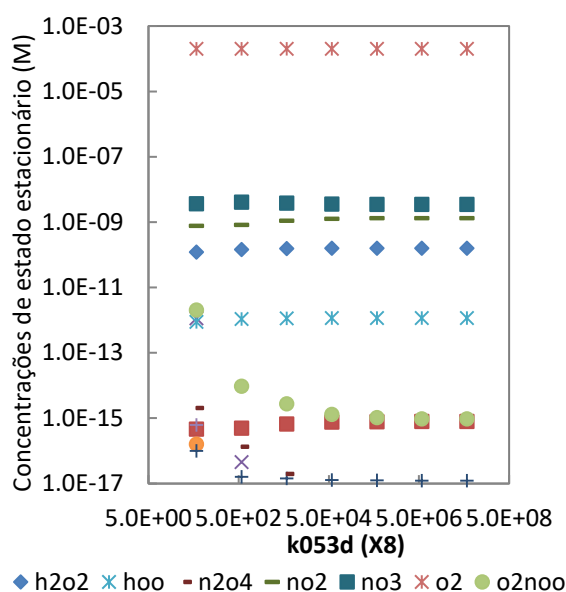
**Figura 50.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $\text{CO}_3^{*-}$ ,  $\text{NO}_2^*$ ,  $\text{ONOO}^-$  e  $\text{ONOOCO}_2^-$



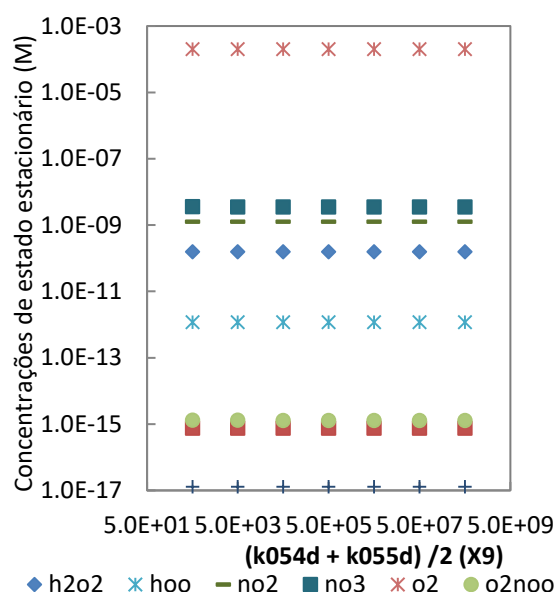
em função da variação da velocidade de produção de  $\text{ONOOCO}_2^-$  ( $k_{053d}$ )

em função da variação da velocidade de consumo de  $\text{ONOOCO}_2^-$   $((k_{054d} + k_{055d})/2)$

Nas duas figuras seguintes verifica-se que a variação das velocidades de produção e de consumo de nitrosoperoxocarbonato apresentam resultados bastante semelhantes. Na Figura 51 e na Figura 52 observa-se que as concentrações de nitrato, nitrito, peróxido de hidrogénio e anião hidroperoxilo apresentam-se constantes, com a concentração de peroxonitrato a diminuir com a formação do nitrosoperoxocarbonato. Os valores de  $\text{HNO}_2$ ,  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{ONOOH}$ ,  $\text{N}_2\text{O}_3$ ,  $\text{N}_2\text{O}_4$ ,  $\text{NO}_2^+$ ,  $\text{NO}^+$ ,  $\text{NO}_3^{2-}$ ,  $\text{O}_2\text{NOOH}$  e  $\text{OH}^*$  mostram-se inferiores a 1 fM pelo que são biologicamente irrelevantes.

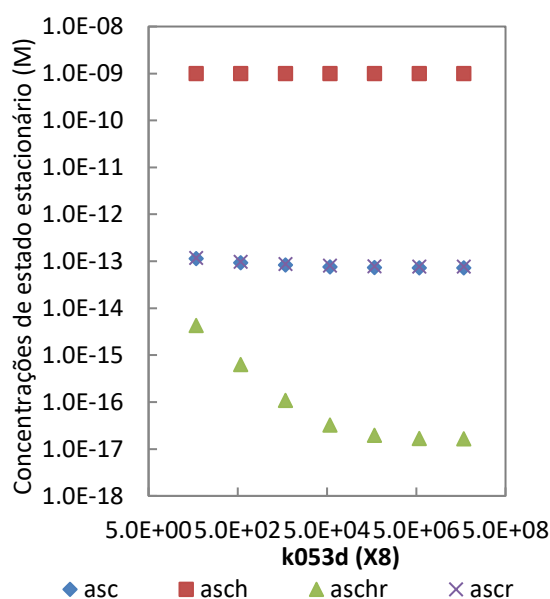


**Figura 51.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{HO}_2^-$ ,  $\text{N}_2\text{O}_4$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{O}_2$ , e de  $\text{O}_2\text{NOO}^-$  em função da variação da velocidade de produção de  $\text{ONOOCO}_2^-$  ( $k_{053d}$ )

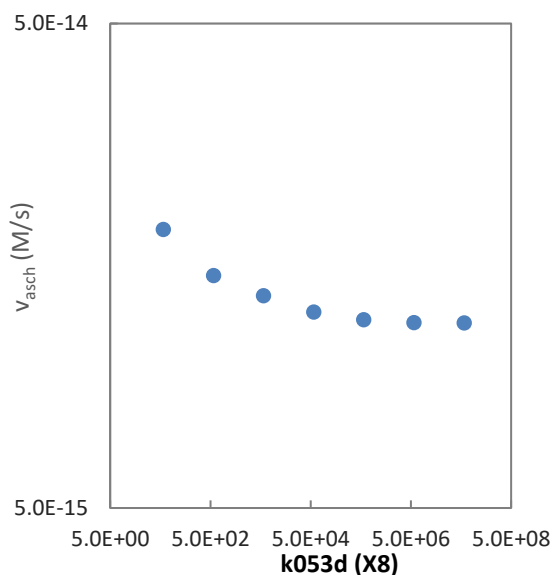


**Figura 52.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{HO}_2^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{O}_2$ , e de  $\text{O}_2\text{NOO}^-$  em função da variação da velocidade de consumo de  $\text{ONOOCO}_2^-$   $((k_{054d} + k_{055d})/2)$

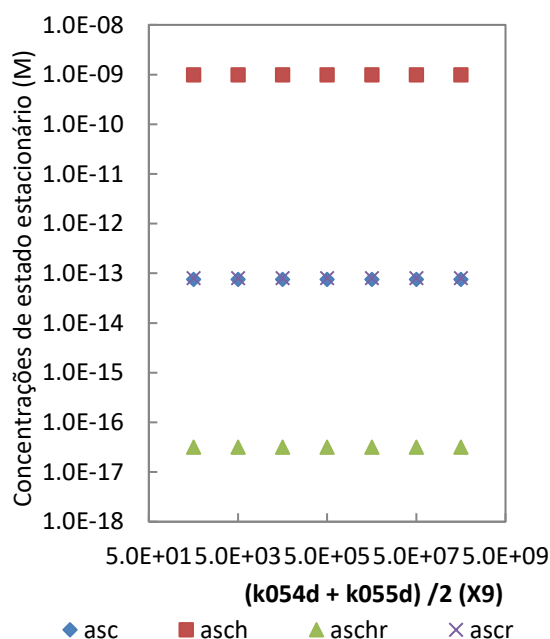
Na Figura 53, as concentrações de estado estacionário de  $\text{AscH}^-$ ,  $\text{Asc}$  e  $\text{Asc}^{\bullet-}$  mantêm-se constantes, enquanto os valores do radical ascorbilo diminuem com o aumento da velocidade de formação do nitrosoperoxocarbonato, verificando-se uma ligeira diminuição na velocidade global de consumo de ascorbato (Figura 54). Na Figura 55, as concentrações de todas as espécies derivadas do ascorbato mantêm-se constantes.



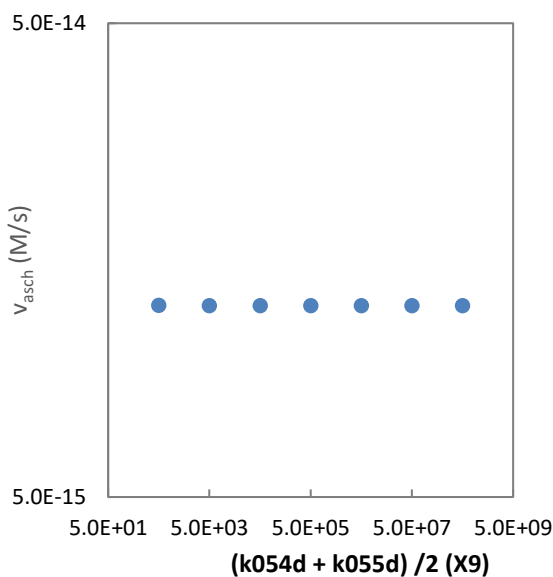
**Figura 53.** Variação das concentrações de estado estacionário de Asc,  $\text{Asch}^-$ ,  $\text{Asch}^+$  e de  $\text{Asc}^{2-}$  em função da variação da velocidade de produção de  $\text{ONOOCO}_2^-$  ( $k_{053d}$ )



**Figura 54.** Variação da velocidade de consumo de  $\text{Asch}^-$  em função da variação da velocidade de produção de  $\text{ONOOCO}_2^-$  ( $k_{053d}$ )



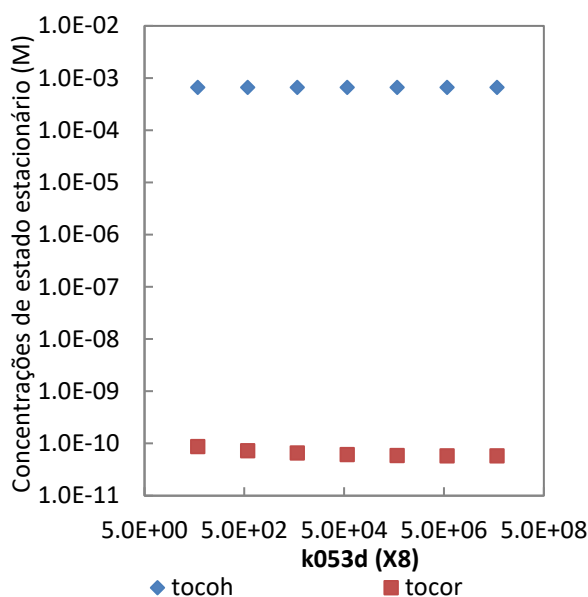
**Figura 55.** Variação das concentrações de estado estacionário de Asc,  $\text{Asch}^-$ ,  $\text{Asch}^+$  e de  $\text{Asc}^{2-}$  em função da variação da velocidade de consumo de  $\text{ONOOCO}_2^-$  ( $(k_{054d} + k_{055d})/2$ )



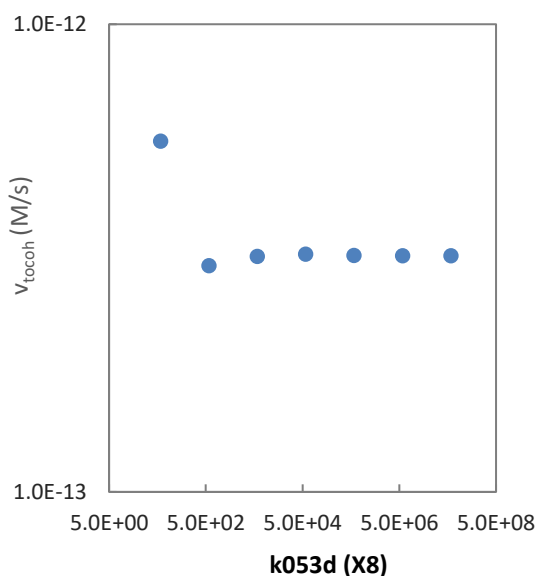
**Figura 56.** Variação da velocidade de consumo de  $\text{Asch}^-$  em função da variação da média de  $k_{054d}$  e  $k_{055d}$ .

Nas figuras Figura 57 e Figura 59, os valores das espécies  $\text{TocOH}$  e  $\text{TocO}^+$  não apresentam nenhuma variação significativa das concentrações de estado estacionário embora se verifique

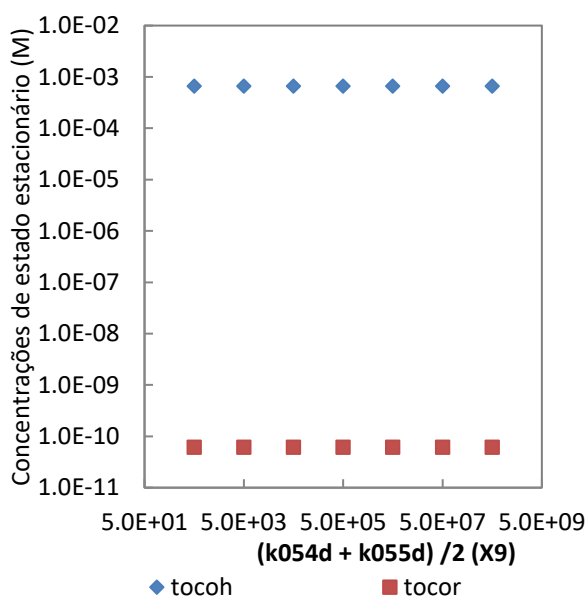
que o aumento da produção de nitrosoperoxocarbonato leva a uma diminuição do consumo de tocoferol numa primeira fase, tornando-se depois constante (Figura 58).



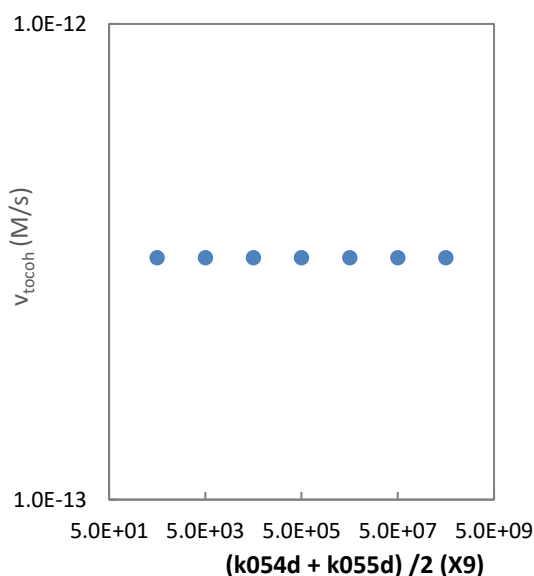
**Figura 57.** Variação das concentrações de estado estacionário de TocOH e de TocO• em função da variação da velocidade de produção de  $\text{ONOOCO}_2^-$  ( $k_{053d}$ )



**Figura 58.** Variação da velocidade de consumo de TocOH em função da variação da velocidade de produção de  $\text{ONOOCO}_2^-$  ( $k_{053d}$ )



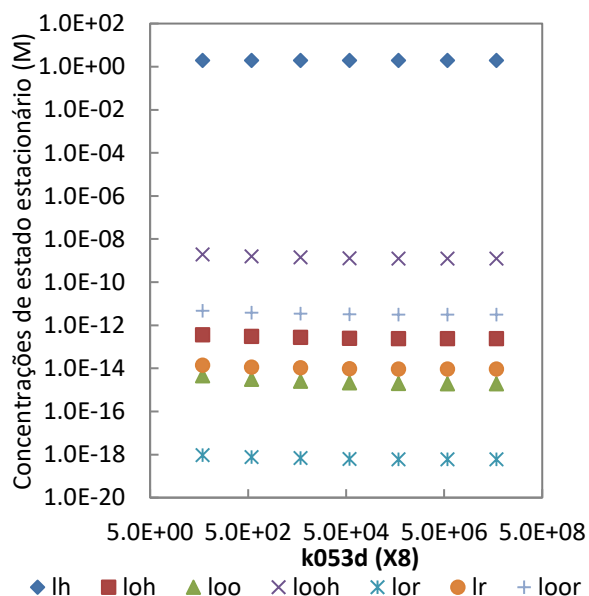
**Figura 59.** Variação das concentrações de estado estacionário de TocOH e de TocO• em função da variação da velocidade de consumo de  $\text{ONOOCO}_2^-$   $((k_{054d} + k_{055d})/2)$



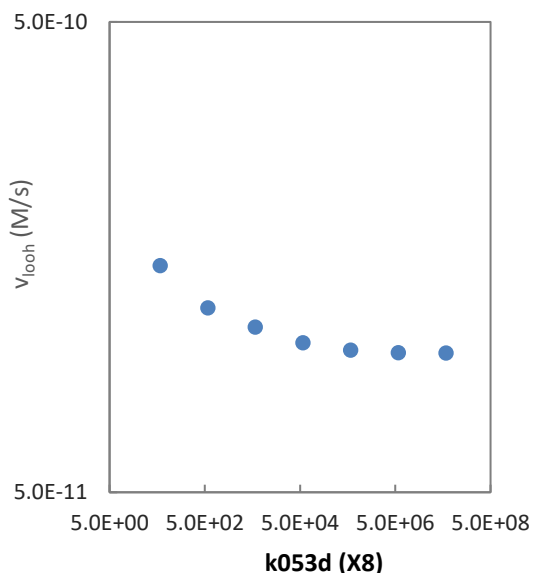
**Figura 60.** Variação da velocidade de consumo de TocOH em função da variação da velocidade de consumo de  $\text{ONOOCO}_2^-$   $((k_{054d} + k_{055d})/2)$

Nas figuras Figura 61 e Figura 63, os valores das espécies lipídicas mantêm-se praticamente constantes bem como a velocidade de formação do lipohidróxido, indicando não haver

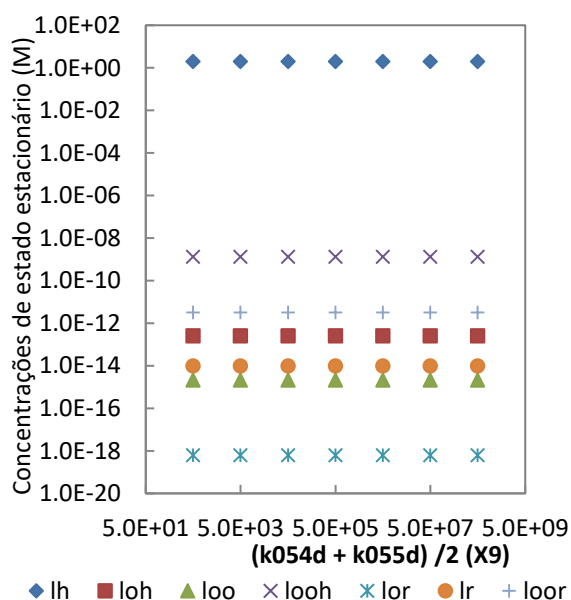
nenhuma reação direta, verificando-se apenas uma ligeira diminuição da velocidade global da peroxidação lipídica com a produção do nitrosoperoxocarbonato (Figura 62). Por outro lado, o aumento da velocidade de consumo de  $ONOO\dot{C}O_2^-$  não tem qualquer efeito na  $v_{looh}$  (Figura 64).



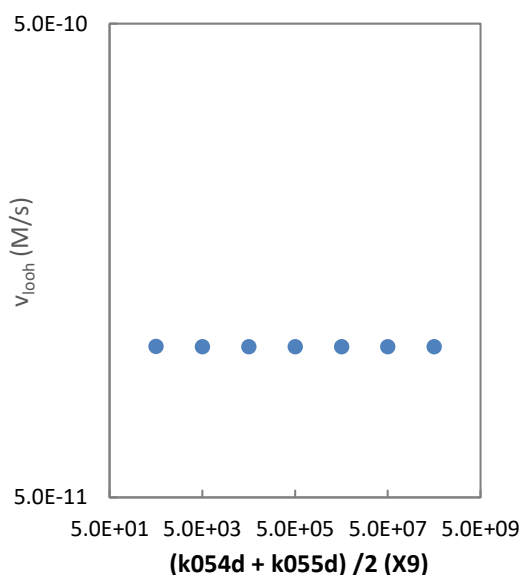
**Figura 61.** Variação das concentrações de estado estacionário de LH, LOH, LOO<sup>-</sup>, LOOH, LO\*, L\* e de LOO\* em função da variação da velocidade de produção de  $ONOO\dot{C}O_2^-$  ( $k_{053d}$ )



**Figura 62.** Variação da velocidade de formação de LOOH em função da variação da velocidade de produção de  $ONOO\dot{C}O_2^-$  ( $k_{053d}$ )

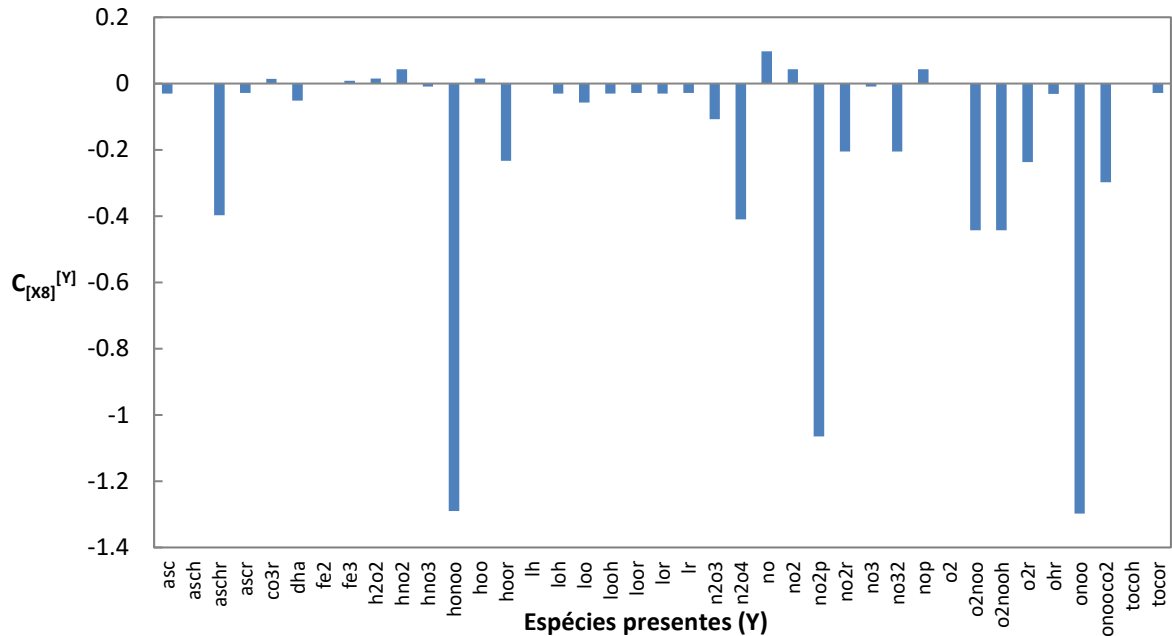


**Figura 63.** Variação das concentrações de estado estacionário de LH, LOH, LOO<sup>-</sup>, LOOH, LO\*, L\* e de LOO\* em função da variação da velocidade de consumo de  $ONOO\dot{C}O_2^-$  ( $(k_{054d} + k_{055d})/2$ )

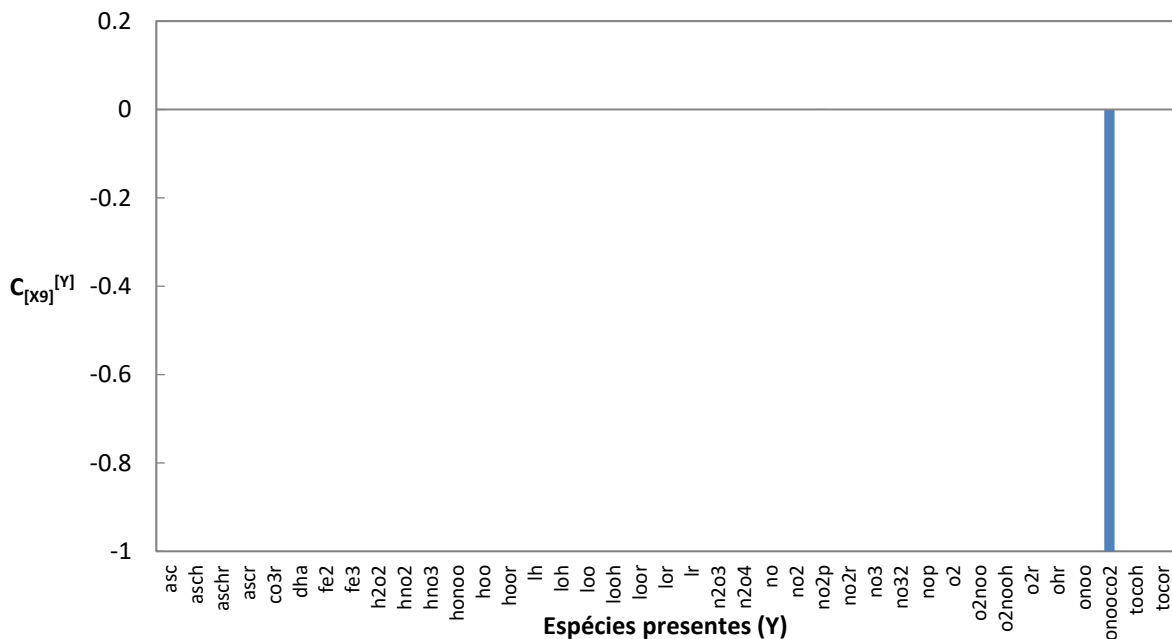


**Figura 64.** Variação da velocidade de formação de LOOH em função da variação da velocidade de consumo de  $ONOO\dot{C}O_2^-$  ( $(k_{054d} + k_{055d})/2$ )

Na Figura 65, as espécies com maiores coeficientes de controlo negativos são  $ONOO^-$  e  $ONOOH$  que são consumidos mais cada vez que se aumenta o  $k_{053d}$  e o  $NO_2^+$  que é formado a partir do ácido peroxonitroso através da reação ácido-base. Enquanto que na Figura 66, a maioria das espécies apresenta coeficientes de controlo quase nulos, ao mesmo tempo que a com maior coeficiente de controlo negativo é a de  $ONOOCO_2^-$  que, como era suposto, condiz com a variação da variável.



**Figura 65.** Coeficientes de controlo entre espécies resultante da variação da velocidade de produção de  $ONOOCO_2^-$  ( $k_{053d}$ )

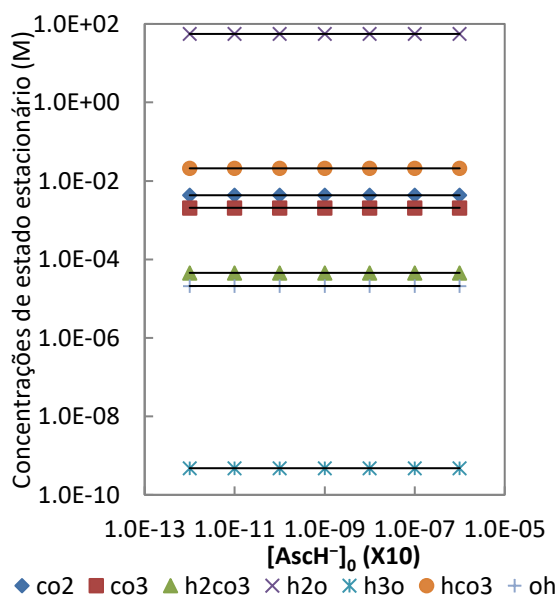


**Figura 66** Coeficientes de controlo entre espécies resultante da variação da velocidade de consumo de  $ONOOCO_2^-$  ( $((k_{054d} + k_{055d}) / 2)$ )

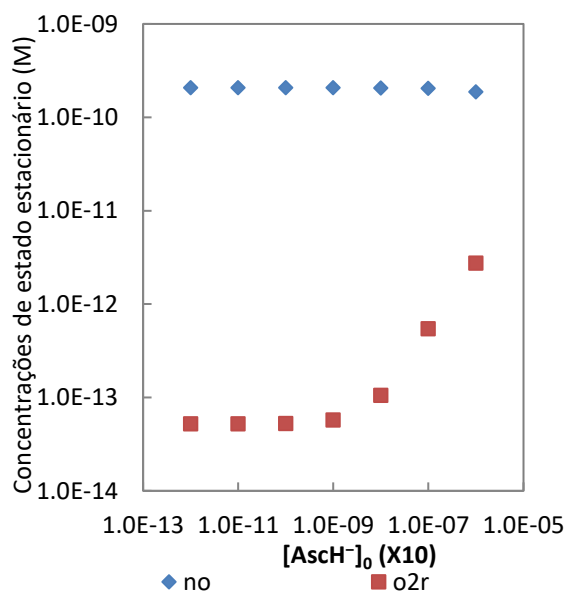
### 3.2.5 VARIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INICIAL DO ANIÃO ASCORBATO

Até aqui analisou-se apenas o efeito da variação de parâmetros relacionados com as espécies reativas. Para contrariar o efeito das espécies reativas, é necessário analisar o papel dos antioxidantes no sistema.

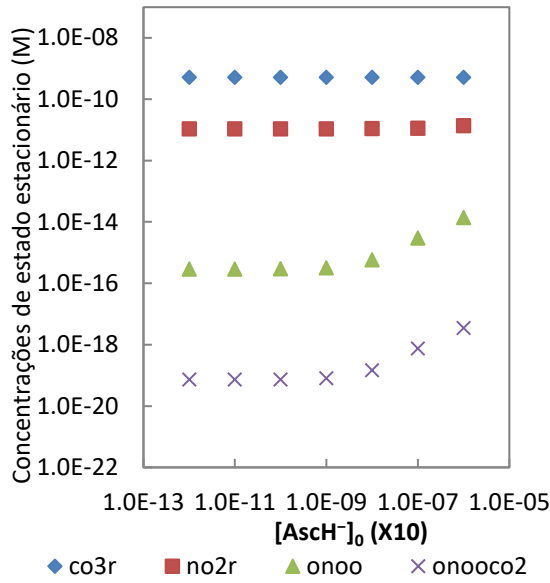
Para tal, variou-se primeiro a concentração inicial do anião ascorbato, um antioxidante de baixo peso molecular hidrossolúvel, sendo os resultados apresentados nas figuras Figura 67 a Figura 77. Os resultados apresentados na Figura 67 permitem constatar que as concentrações das espécies envolvidas no sistema de tampão carbonato e na auto-ionização da água não são afetadas pelo aumento da concentração inicial de ascorbato, e na Figura 68 observa-se um aumento da concentração em estado estacionário do superóxido, enquanto que a concentração em estado estacionário do óxido nítrico praticamente não sofre alterações. Na Figura 69 verifica-se também que as concentrações de estado estacionário de peroxinitrito e de  $ONOOCO_2^-$  aumentam enquanto as dos radicais dele formados não sofrem alterações, o que se repete na Figura 70, em que não se observam alterações significativas das concentrações das espécies reativas, com exceção no anião peroxonitrato cuja concentração aumentou. Estes resultados estão de acordo com o esperado uma vez que o ascorbato não é um antioxidante que capte eficazmente espécies reativas de azoto, mas apenas de oxigénio.



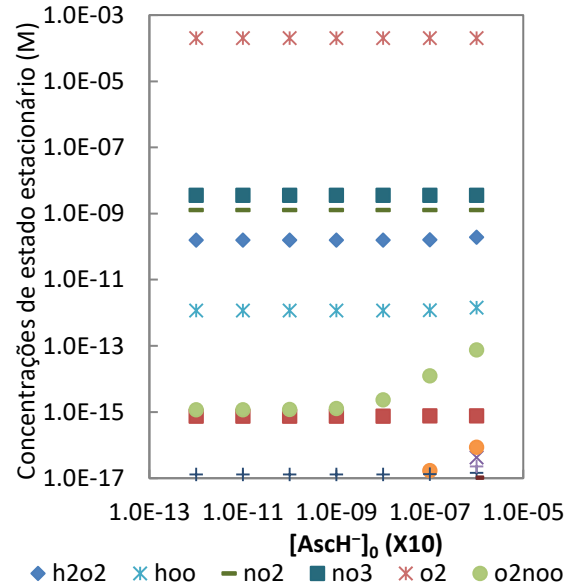
**Figura 67.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $CO_2$ ,  $CO_3^{2-}$ ,  $H_2CO_3$ ,  $H_2O$ ,  $H_3O^+$ ,  $HCO_3^-$  e  $OH^-$  em função da variação de  $[AscH^-]_0$



**Figura 68.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $NO^+$  e  $O_2^-$  em função da variação de  $[AscH^-]_0$

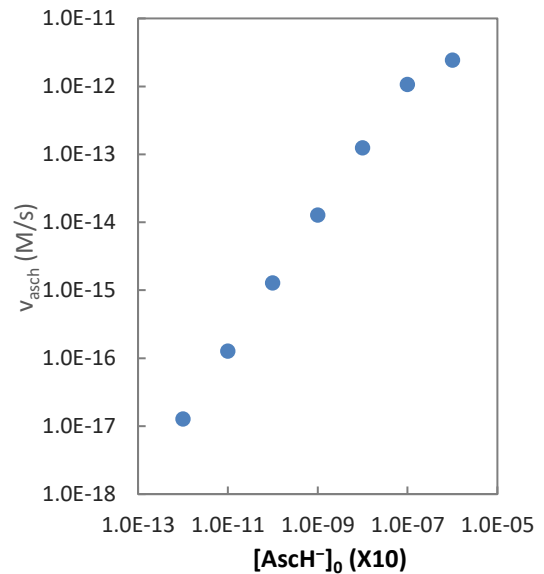
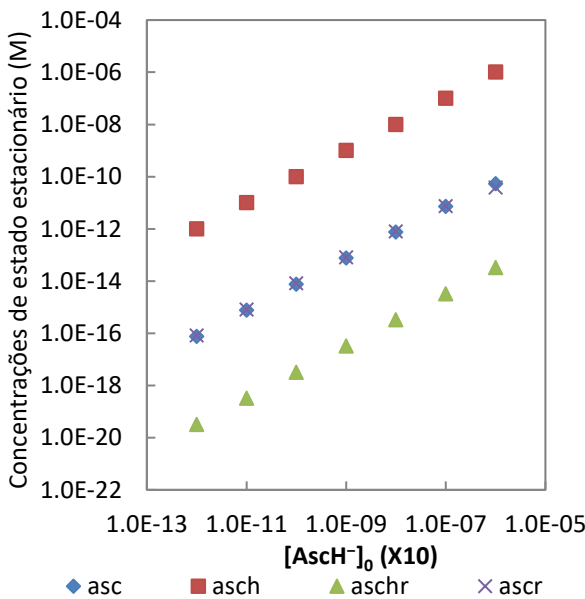


**Figura 69.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $\text{CO}_3^{\bullet-}$ ,  $\text{NO}_2^{\bullet}$ ,  $\text{ONOO}^{\bullet}$  e  $\text{ONOOCO}_2^{\bullet}$  em função da variação de  $[\text{AscH}^{\bullet}]_0$

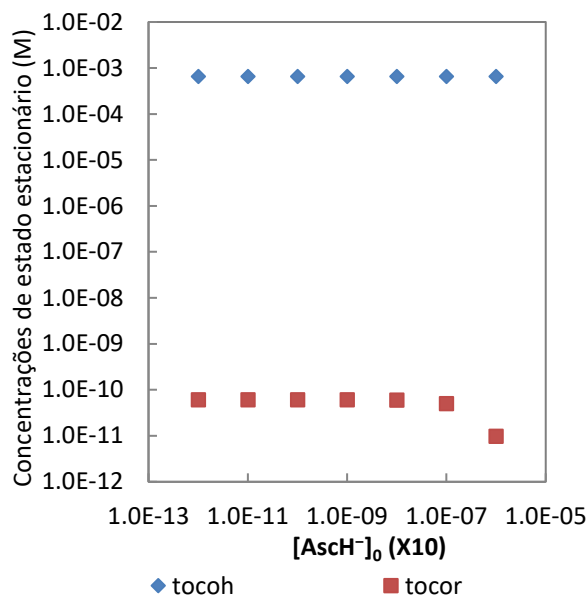


**Figura 70.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{HO}_2^{\bullet}$ ,  $\text{NO}_2^{\bullet}$ ,  $\text{NO}_3^{\bullet}$ ,  $\text{O}_2$ , e de  $\text{O}_2\text{NOO}^{\bullet}$  em função da variação de  $[\text{AscH}^{\bullet}]_0$

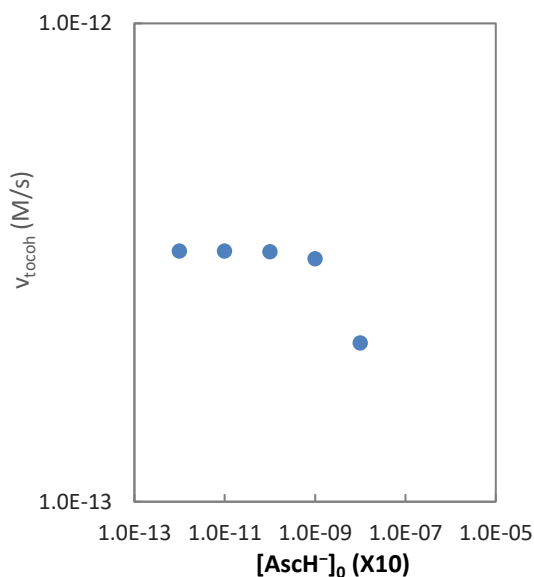
Na Figura 71 observa-se o aumento esperado das concentrações de todas as espécies derivadas do ascorbato, constatando-se (Figura 73) que não tem efeito significativo sobre as concentrações de tocoferol e radical tocoferoxilo, este último diminuindo um pouco. Por outro lado, o aumento da concentração inicial de ascorbato leva a um aumento sustentado da concentração em estado estacionário do anião lipoperoxilo (Figura 75). O aumento da concentração inicial de  $\text{AscH}^{\bullet}$  leva ao aumento esperado de  $v_{\text{asch}}$ , uma vez que há uma maior disponibilidade de reagente (Figura 72), bem como a uma diminuição de  $v_{\text{tocol}}$  (Figura 74), apresentando assim a capacidade de poupar o tocoferol.



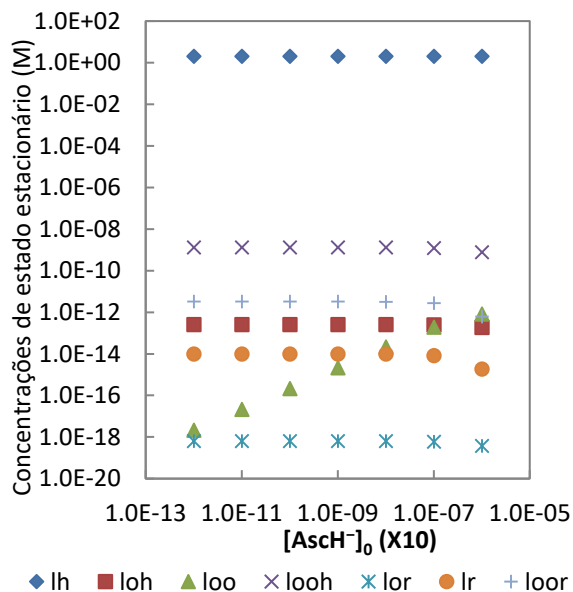
**Figura 71.** Variação das concentrações de estado estacionário de Asc, AscH<sup>-</sup>, AscH<sup>•</sup> e de Asc<sup>•-</sup> em função da variação de [AscH<sup>-</sup>]<sub>0</sub>



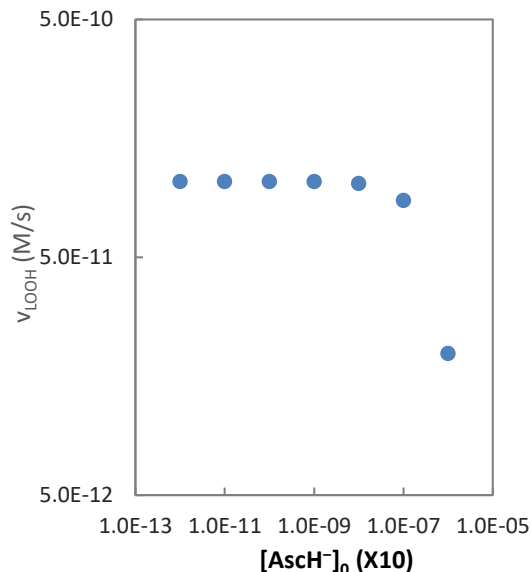
**Figura 72.** Variação da velocidade de consumo de AscH<sup>-</sup> em função da variação de [AscH<sup>-</sup>]<sub>0</sub>



**Figura 73.** Variação das concentrações de estado estacionário de TocOH e de TocO<sup>•</sup> em função da variação de [AscH<sup>-</sup>]<sub>0</sub>



**Figura 74.** Variação da velocidade de consumo de TocOH em função da variação de [AscH<sup>-</sup>]<sub>0</sub>



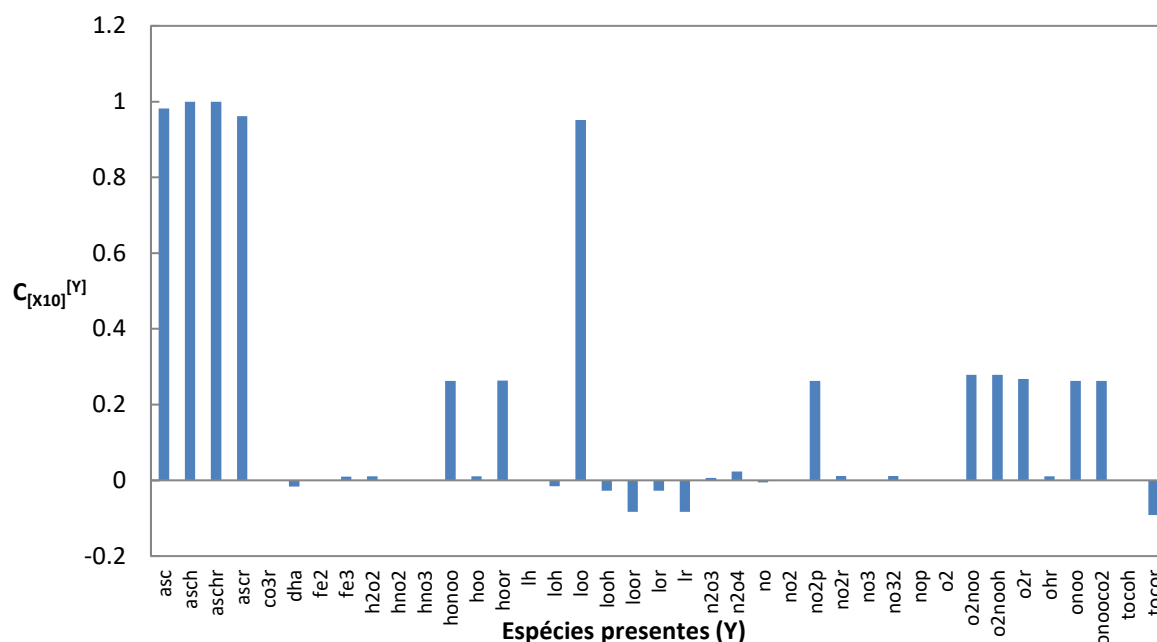
**Figura 75.** Variação das concentrações de estado estacionário de LH, LOH, LOO<sup>-</sup>, LOOH, LO<sup>•</sup>, L<sup>•</sup> e de LOO<sup>•</sup> em função da variação de [AscH<sup>-</sup>]<sub>0</sub>

**Figura 76.** Variação da velocidade de formação de LOOH em função da variação de [AscH<sup>-</sup>]<sub>0</sub>

Segundo a Figura 77, a maioria das espécies apresenta coeficientes de controlo quase nulos, as espécies com maiores coeficientes de controlo positivos são os antioxidantes de ascorbato, e o anião lipoperoxilo visto serem os que mostraram maior variação das concentrações nas



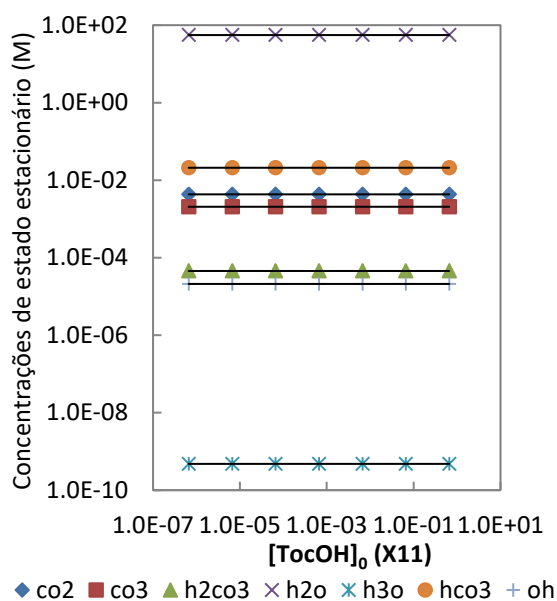
outras figuras, enquanto que as com maiores coeficientes de controlo negativos são os radicais lipídicos e o radical tocoferoxilo.



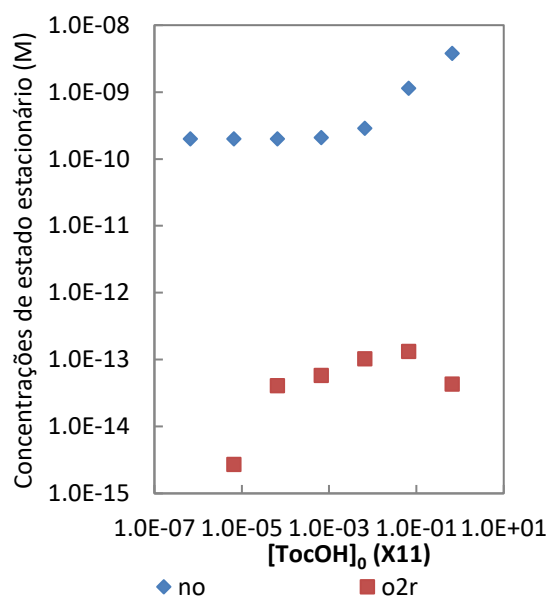
**Figura 77.** Coeficientes de controlo entre espécies resultante da variação da concentração inicial de  $[AsCH^-]$

### 3.2.6 VARIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INICIAL DE TOCOFEROL

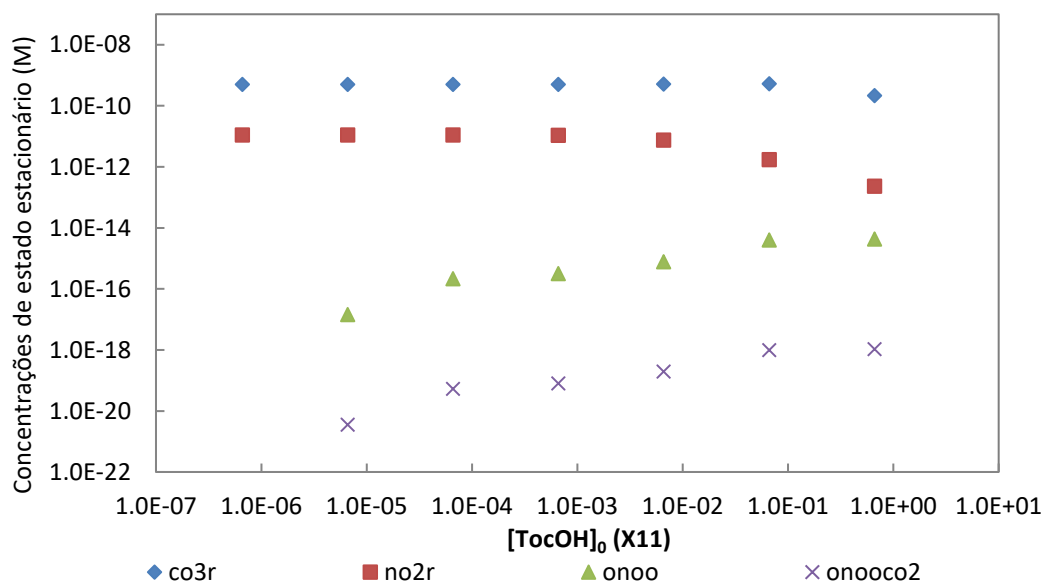
Ao contrário do ascorbato, que é hidrossolúvel, atuando apenas em sistemas lipídicos, o tocoferol é lipossolúvel que entra e atua nos tecidos através do sistema linfático (Salvador *et al.*, 1995; Koekkoek e Van Zanten, 2016). Nas figuras Figura 78 a Figura 88 apresentam-se os resultados obtidos com a variação da concentração inicial de tocoferol no sistema. Com o aumento da concentração inicial de tocoferol verifica-se que as concentrações das espécies tampão, bem como de  $H_2O$ ,  $H_3O^+$  e  $OH^-$ , se mantêm constantes (Figura 78) e observa-se também que a concentração em estado estacionário de óxido nítrico aumenta, enquanto que a de superóxido diminui (Figura 79). Em paralelo, há um aumento muito ligeiro das concentrações de peroxinitrito e do  $ONOOCO_2^-$ , e uma diminuição igualmente suave dos radicais derivados deste,  $CO_3^{\bullet-}$  e  $NO_2^{\bullet}$  (Figura 80).



**Figura 78.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $CO_2$ ,  $CO_3^{2-}$ ,  $H_2CO_3$ ,  $H_2O$ ,  $H_3O^+$ ,  $HCO_3^-$  e  $OH^-$  em função da variação de  $[TocOH]_0$

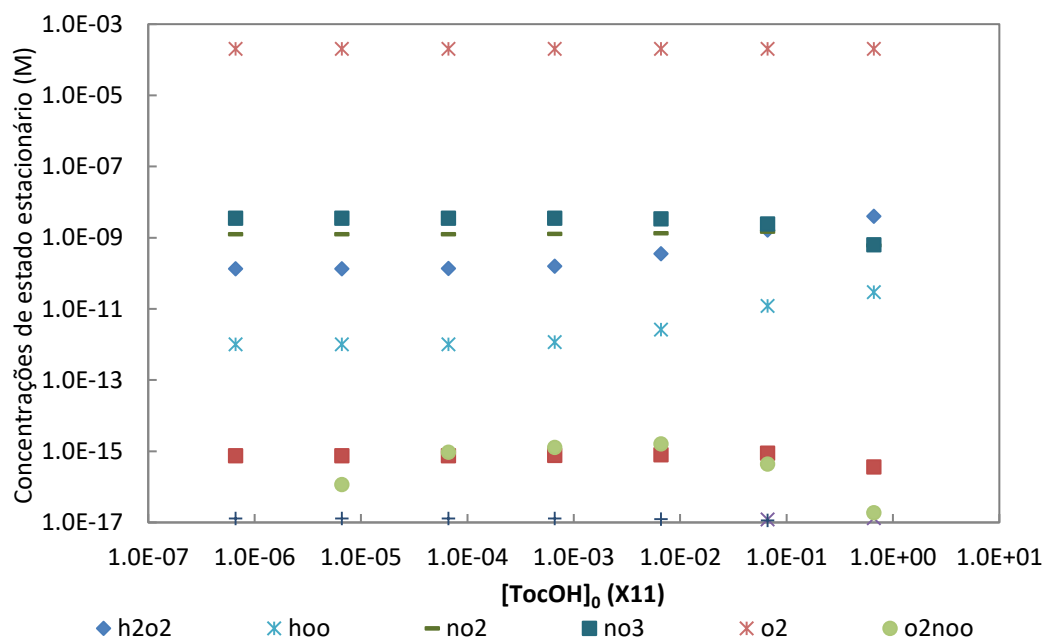


**Figura 79.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $NO^+$  e  $O_2^-$  em função da variação de  $[TocOH]_0$



**Figura 80.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $CO_3^{2-}$ ,  $NO_2^+$ ,  $ONOO^-$  e  $ONOOCO_2^-$  em função da variação de  $[TocOH]_0$

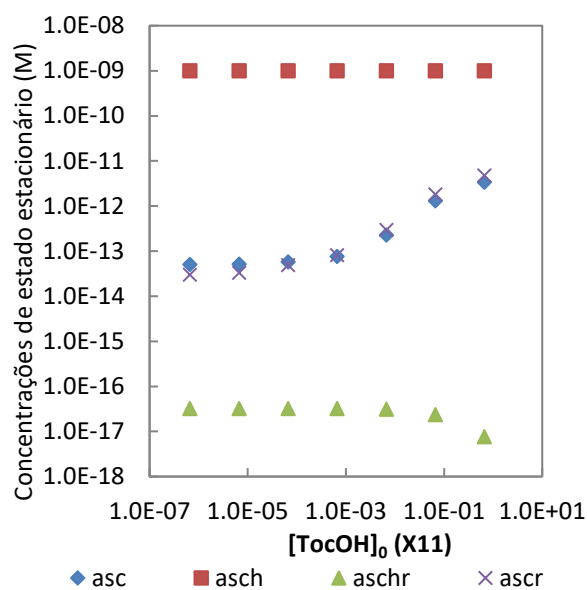
O aumento da concentração inicial de tocoferol até 0,66 mM tem um efeito limitado sobre as concentrações das várias espécies reativas presentes no sistema, e a partir daí observa-se um aumento de algumas, em particular de  $H_2O_2$  e  $HO_2^-$  e uma diminuição de outras, nomeadamente o  $NO_3^-$  e o  $O_2NOO^-$  (Figura 81).



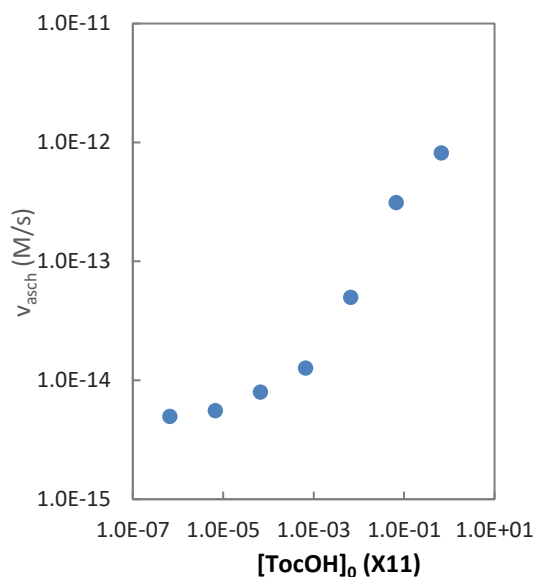
**Figura 81.** Variação das concentrações de estado estacionário de  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{HO}_2^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{O}_2$ , e de  $\text{O}_2\text{NOO}^-$  em função da variação de  $[\text{TocOH}]_0$

Verifica-se também que, ao aumentar a concentração inicial de tocoferol, aumentam as concentrações do dianião ascorbato e do radical desidroascorbilo, associadas a uma diminuição muito ligeira do radical ascorbilo (Figura 82), o que se explica pelo facto de o aumento da concentração do radical tocoferoxilo (Figura 84) observado levar a um aumento da necessidade da sua regeneração, que se encontra associada ao consumo de ascorbato.

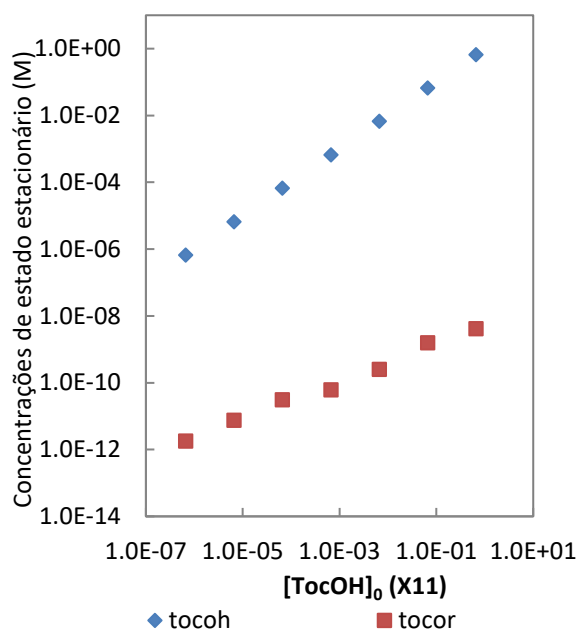
Note-se que o aumento da concentração inicial de tocoferol leva simultaneamente ao aumento de  $v_{asch}$  e  $v_{toco}$  (figuras Figura 83 e Figura 85); enquanto que o aumento da concentração inicial de tocoferol aumenta a disponibilidade de reagente, e por isso leva a um aumento de  $v_{toco}$ , leva também ao aumento dos produtos de oxidação derivados de  $\text{TocOH}$ , que pode ser regenerado através da utilização de ascorbato, o que leva a um aumento de  $v_{asch}$ .



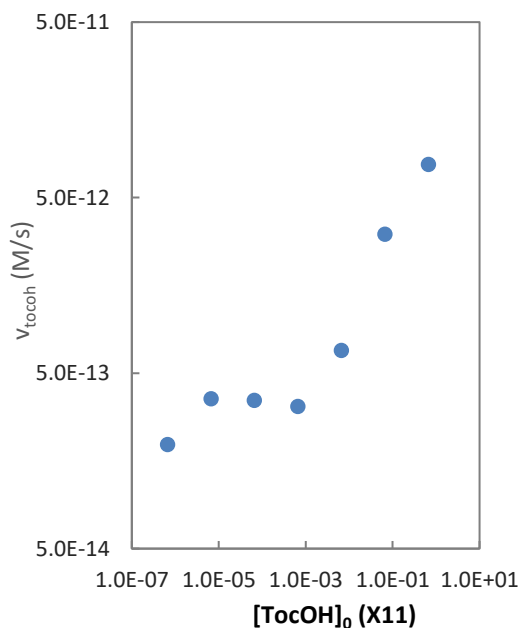
**Figura 82.** Variação das concentrações de estado estacionário de Asc, Asch<sup>-</sup>, Asch<sup>+</sup> e de Asc<sup>++</sup> em função da variação de [TocOH]₀



**Figura 83.** Variação da velocidade de consumo de Asch<sup>-</sup> em função da variação de [TocOH]₀

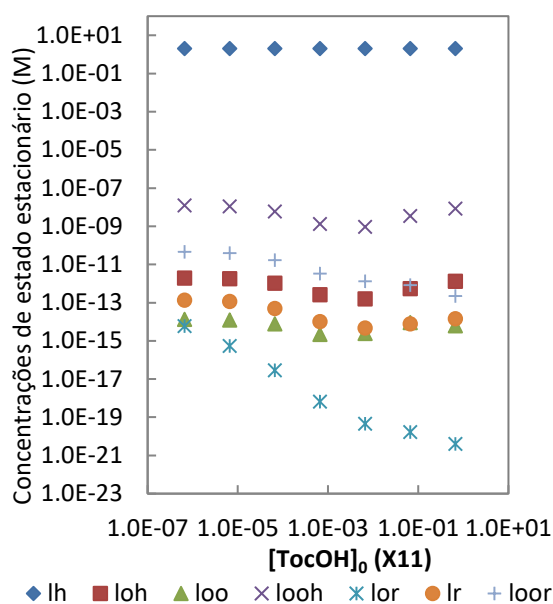


**Figura 84.** Variação das concentrações de estado estacionário de TocOH e de TocO<sup>+</sup> em função da variação de [TocOH]₀

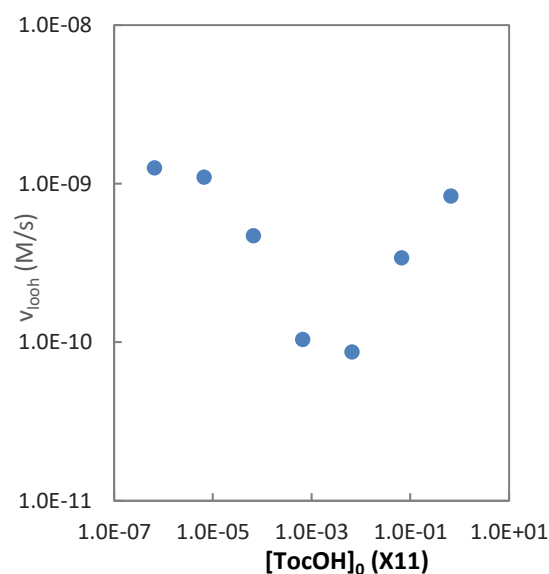


**Figura 85.** Variação da velocidade de consumo de TocOH em função da variação de [TocOH]₀

Por outro lado, na presença de maior quantidade de tocoferol observa-se que as concentrações de todas as espécies lipídicas oxidadas diminuem (Figura 86) o que está de acordo com o papel antioxidante do tocoferol na peroxidação lipídica.

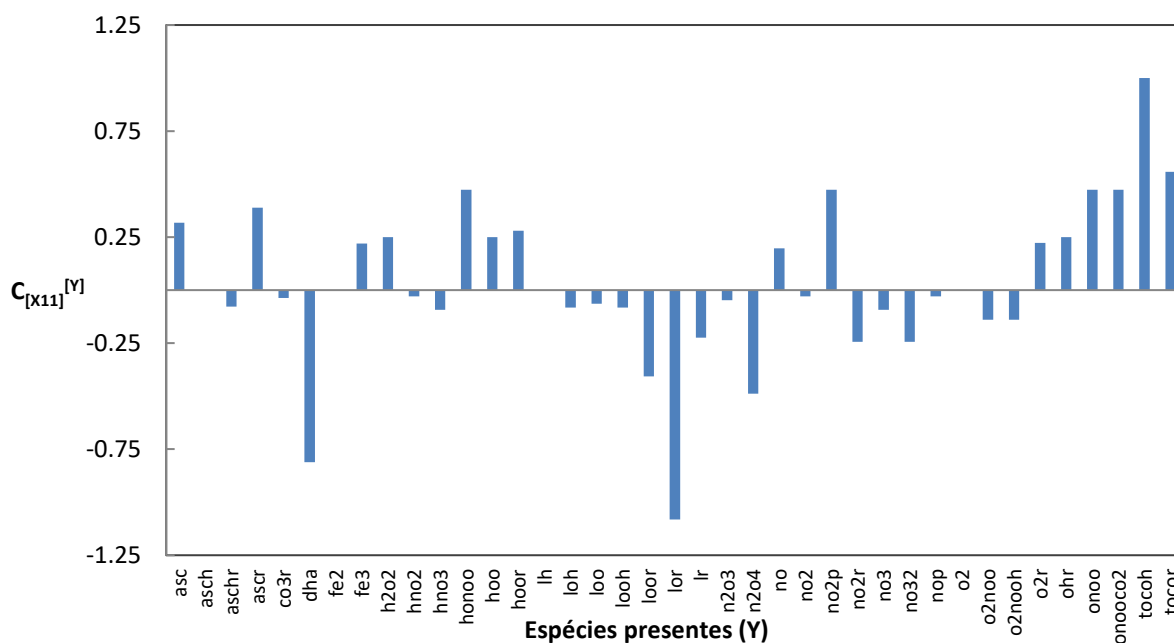


**Figura 86.** Variação das concentrações de estado estacionário de LH, LOH, LOO<sup>-</sup>, LOOH, LO<sup>\*</sup>, L<sup>\*</sup> e de LOO<sup>\*</sup> em função da variação de [TocOH]<sub>0</sub>



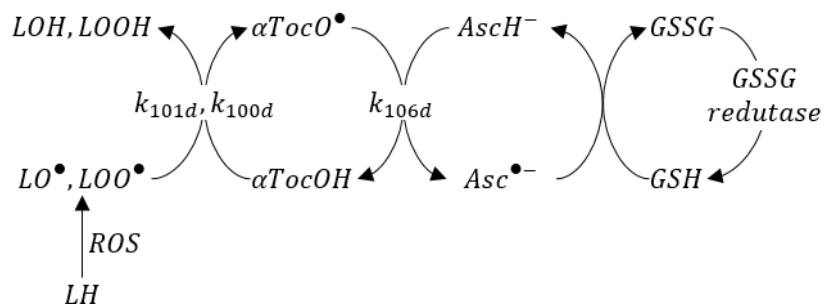
**Figura 87.** Variação da velocidade de formação de LOOH em função da variação de [TocOH]<sub>0</sub>

Segundo a Figura 88, as espécies com os maiores coeficientes de controlo positivos são *TocOH* e *TocO<sup>\*</sup>*, como seria de esperar, enquanto as que apresentam maiores coeficientes de controlo negativos são o *LO<sup>\*</sup>*, que reage com o tocoferol (reação 101), e o produto acumulado *DHA*.



**Figura 88.** Coeficientes de controlo entre espécies resultante da variação da concentração inicial de [TocOH]

Os resultados obtidos com a variação das concentrações iniciais de ascorbato e de tocoferol estão de acordo com a rede de regeneração de antioxidantes endógena (Figura 89), que se baseia primariamente na regeneração de tocoferol (um antioxidante lipossolúvel), por parte do ascorbato que ao mesmo tempo expulsa diretamente as ROS solúveis em água. O tocoferol é um antioxidante quebrador de cadeias no processo da peroxidação lipídica e expulsa diretamente ROS solúveis em lípidos (Koekkoeck e Van Zanten, 2016).



**Figura 89.** Rede de regeneração endógena de antioxidantes

## 4. CONCLUSÃO

O objetivo deste trabalho foi implementar e validar um modelo matemático que permita descrever a conversão de espécies reativas e o papel dos antioxidantes em situações de stress oxidativo e nitrosativo no plasma.

Os resultados obtidos indicam que o modelo construído é globalmente válido para descrever o papel das várias espécies reativas e antioxidantes:

- Observou-se que o óxido nítrico, apesar de ser uma espécie radicalar, tem efeitos protetores contra o stress oxidativo, ao ser capaz de provocar a diminuição das espécies oxidantes mais lesivas;
- Por outro lado, verificou-se que o superóxido tem o papel oposto, levando a uma diminuição global da concentração de óxido nítrico e promovendo o aumento do nível das espécies oxidantes;
- O peroxinitrito, formado pela reação do óxido nítrico com o superóxido, e espécies dele derivadas, em particular o aducto formado com dióxido de carbono, têm um papel muito importante na dinâmica do sistema, sendo das espécies mais afetadas por perturbações no sistema, conforme evidenciado pela análise de coeficientes de controlo efetuada;
- Os antioxidantes ascorbato e tocoferol mostraram ter um papel complementar, conforme esperado pelo conhecimento biológico do sistema, e mostraram ter um papel sobre a peroxidação lipídica que está de acordo com o que é conhecido experimentalmente.

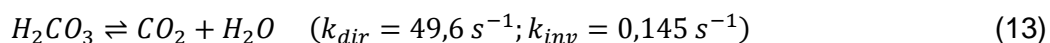
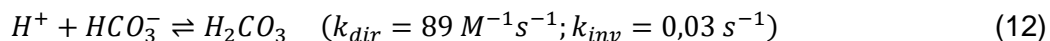
Contudo, todas as simulações efetuadas levaram à obtenção de valores não fisiológicos das concentrações de  $H_3O^+$  e de  $OH^-$ . Para tentar determinar a origem destes valores, foram feitas duas simulações simplificadas.

Num primeiro caso, simulou-se um modelo constituído apenas pela reação de auto-ionização da água (reação 2), verificando-se que as concentrações de  $H_3O^+$  e de  $OH^-$  se mantêm constantes e iguais, com um valor de  $0,9986 \times 10^{-7} M$ , a que corresponde um pH de 7,00 (situação 1).

De seguida, simulou-se um modelo constituído pela reação de auto-ionização da água e pelas reações que envolvem o efeito tampão do dióxido de carbono (reações 59 e 60), sem contabilizar as reações 61 a 64, que descrevem os equilíbrios de protonação das espécies carbonadas, tendo surgido os valores previamente obtidos de  $[H_3O^+] = 9,99 \times 10^{-8} M$  e  $[OH^-] = 9,99 \times 10^{-8} M$  (situação 2).

Ao adicionar as reações 61 a 64 obtêm-se os valores não fisiológicos de  $[H_3O^+] = 4,78 \times 10^{-10} M$  e de  $[OH^-] = 2,1 \times 10^{-5} M$  (situação 3), também com  $[CO_2] = 0,004307 M$ ,  $[CO_3^{2-}] = 0,002061 M$ ,  $[H_2CO_3] = 4,54 \times 10^{-5} M$ ,  $[H_2O] = 55,56429 M$ ,  $[HCO_3^-] = 0,020917 M$ .

Por comparação com os modelos descritos na literatura, por exemplo o modelo de Choi e Lim (2009), o modelo aqui apresentado é demasiado detalhado. Choi e Lim (2009) apresentam o modelo global de tamponação do sangue com sendo descrito por apenas duas reações reversíveis (equações 12 e 13), e determinam o valor de pH não apenas pela concentração de  $H_3O^+$  mas usando também o pKa aparente de ácido carbónico para obter o valor de pH real (equação 14):



$$pH = pK^{app} + \log \frac{[HCO_3^-]}{[CO_2]} \quad (pK^{app} = 6,103) \quad (14)$$

Aplicando a equação 14 à simulação 3 referida acima, em que obteve  $[HCO_3^-] = 0,020917 \text{ M}$ ,  $[CO_2] = 0,004307 \text{ M}$  e  $[H_3O^+] = 4,78 \times 10^{-10} \text{ M}$ , obtém-se um valor de pH de aproximadamente 6,8 bastante perto do valor fisiológico do que o que se obtém com  $pH = -\log[H_3O^+]$ , que é 9,3. Note-se que as concentrações de dióxido de carbono e de hidrogenocarbonato obtidas com o modelo simplificado de tamponamento de sangue e com o modelo completo (Tabela 2) não são significativamente diferentes indicando que as reações entre espécies reativas e com antioxidantes incluídas não alterarão significativamente o valor de pH do sistema, e que os valores não fisiológicos de pH têm origem nas equações que descrevem o sistema dióxido de carbono/hidrogenocarbonato.

Assim, é necessário, para continuar o desenvolvimento deste trabalho, obter primeiro um sistema robusto que descreva o equilíbrio de pH do sangue, e de seguida reconstruir o sistema de reações.



## 5. BIBLIOGRAFIA

- Ali AA., Coulter JA., Ogle CH., Migaud MM., Hirst DG., Robson T. e McCarthy HO. (2013). *A Contribuição do  $N_2O_3$  à citotoxicidade do doador óxido nítrico DETA/NO: um papel emergente para a S-nitrosação*. 33(2):e00031, Relatórios de Biosciência, Portland Press.
- Antunes F., Salvador A., Marinho HS., Alves R. e Pinto RE. (1996). I. An Integrative Kinetic Model In *Lipid Peroxidation in Mitochondrial Inner Membranes*. 917-943, Free Radical Biology & Medicine, Vol. 21, Nº 7.
- Armstrong DA., Asmus KD. e Bonifačić M. (2004). *Oxide Radical Anion Reactivity with Aliphatic Amino Compounds in Aqueous Solution: Comparison of H-Atom Abstraction from C-H and N-H Groups by  $\cdot O^-$  and  $\cdot OH$  Radicals*. 108(12):2238-2246, The Journal of Physical Chemistry A. Department of Chemistry, University of Calgary, Calgary, Alberta, Canada.
- Beckman JS. e Koppenol WH. (1996). *Nitric oxide, superoxide and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly*. 271(5), American Journal of Physiology - Cell Physiology.
- Choi JC, Lim J (2009). Stability of the bicarbonate system in the blood. 356: 145-153, Journal of Mathematical Analysis and Applications.
- Fell D. (2004). Chapter 5: Metabolic Control Analysis In *Understanding the Control of Metabolism*. 103-138, School of Biological & Molecular Sciences. Oxford Brookes University.
- Goldstein S., Czapski G., Lind J. e Merenyi G. (1998). *Mechanism of Peroxynitric Ion ( $O_2NOO^-$ ): Evidence for the Formation of  $O_2^{\cdot -}$  and  $\cdot NO_2$  Radicals*. 37(16):3943-3947, Inorganic Chemistry, ACS Publications.
- Heinrich R. e Schuster S. (1996). Capítulo 5: Análise de Controlo Metabólico In *A Regulação dos Sistemas Celulares*. 138-291, Chapman & Hall.
- Justino G. e Ferreira A. (2007). Capítulo VII: Análise Teórica das Interações de Antioxidantes e Espécies Reactivas no Plasma In *Antioxidantes de Estrutura Caterva* (Tese de Doutoramento), Universidade de Lisboa.
- Kavdia M. (2011). *Mathematical and Computational Models of Oxidative and Nitrosative Stress*. Critical Reviews in Biomedical Engineering, 10/06/2014, 39(5):461-472, NIH, Wayne State University, Detroit, Michigan.
- Kirsch M., Korth HG., Wensing A., Sustmann R. e Groot H. (2003). *Product Formation and Kinetic Simulations in the pH Range 1-14 account for a Free Radical Mechanism of Peroxynitrite Decomposition*. Archives of Biochemistry and Biophysics 418 133-150.
- Koekkoek K. e Van Zanten ARH. (2016). *Vitaminas Antioxidantes e Vestígios na Doença Grave*. 31(4):457-474, Prática Clínica de Nutrição.

Mas Musculo Blog! Óxido Nítrico: benéfico para os músculos  
(<https://www.masmusculo.com/blog/oxido-nitrico-benefico-para-os-musculos/>)

Pacher P., Beckman JS. e Liaudet L. (2007). Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease In *Physiological Reviews*. 87(1):315-424, American Physiological Society.

Salvador A., Antunes F. e Pinto RE. (1995). *Kinetic Modeling of in vitro Lipid Peroxidation Experiments - 'Low Level' Validation of a Model of in vivo Lipid Peroxidation*. Department of Chemistry and Biochemistry, Faculty of Sciences, University of Lisbon.

Sies H. (2015). *Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine*. Redox biology, 4:180-183;

Stanbro WD. (2000). I: plasma levels of peroxynitrite In *Modeling the interaction of peroxynitrite with low-density lipoproteins*. 205(3):457-464, Journal of theoretical biology.

Stanbro WD. (2000). II: reaction/diffusion model of peroxynitrite In low-density lipoprotein particles In *Modeling the interaction of peroxynitrite with low-density lipoproteins*. 205(3):465-471, Journal of theoretical biology.

Stanbro WD. (2000). III: the role of antioxidants In *Modeling the interaction of peroxynitrite with low-density lipoproteins*. 205(3):473-482, Journal of theoretical biology.

Waldeck AR. e Stocker R. (1996). *Radical-Initiated Lipid Peroxidation in Low-Density Proteins: Insights Obtained from Kinetic Modeling*. 9(6):954-964, Chemical research in toxicology.

Wink DA., Miranda KM., Espey MG., Pluta RM., Hewett SJ., Colton C., Vitek M., Feelisch M. e Grisham MH. (2001). Mechanisms of the antioxidant effects of nitric oxide In *Antioxidants Redox Signal*. 3(2):203-213, Chandan K. Sen.

Zielinski ZA. e Pratt DA. (2017). *Peroxidação Lipídica: Cinéticas, Mecanismos e Produtos*. 82(6):2817-2825, O Jornal de química orgânica.

## ANEXO

Tabela 3. Espécies presentes no sistema e respetivas quantidades iniciais

Símbolo	Espécie	Nome	Quantidades iniciais
asc	$Asc$	Desidroascorbato	0
asch	$AscH^-$	Anião ascorbato	1 nM
aschr	$AscH^\bullet$	Radical ascorbilo	0
ascr	$Asc^{\bullet-}$	Radical semidesidroascorbilo	0
co2	$CO_2$	Dióxido de carbono	0
co3	$CO_3^{2-}$	Anião carbonato	30 $\mu$ M
co3r	$CO_3^{\bullet-}$	Radical anião carbonato	0
dha	-	Vários produtos	0
fe2	$Fe^{2+}$	lão ferroso	100 nM
fe3	$Fe^{3+}$	lão férrico	0
h2co3	$H_2CO_3$	Ácido carbónico	2,3 mM
h2o	$H_2O$	Água	55,56 M
h2o2	$H_2O_2$	Peróxido de hidrogénio	0
h3o	$H_3O^+$	lão hidrónio	0
hco3	$HCO_3^-$	Anião hidrogenocarbonato	25 mM
hno2	$HNO_2$	Ácido nitroso	0
hno3	$HNO_3$	Ácido nítrico	0
hoono	$ONOOH$	Ácido peroxonitroso	0
hoo	$HO_2^-$	Anião hidroperoxilo	0
hoor	$HO_2^\bullet$	Radical hidroperoxilo	0
lh	$LH$	Lípidos insaturados	2 M
loh	$LOH$	Lipohidróxido	0
loo	$LOO^-$	Anião lipoperoxilo	0
looh	$LOOH$	Lipohidroperóxido	0
loor	$LOO^\bullet$	Radical lipoperoxilo	0
lor	$LO^\bullet$	Radical lipoalcoxilo	0

Símbolo	Espécie	Nome	Quantidades iniciais
lr	$L^\bullet$	Radical lipídico	0
n2o3	$N_2O_3$	Trióxido de diazoto	0
n2o4	$N_2O_4$	Tetraóxido de diazoto	0
no	$NO^\bullet$	Radical óxido nítrico	5 nM
no2	$NO_2^-$	Anião nitrito	0
no2p	$NO_2^+$	Catião nitrónio	0
no2r	$NO_2^\bullet$	Radical nitrito	0
no3	$NO_3^-$	Anião nitrato	0
no32	$NO_3^{2-}$	Dianião nitrato	0
nop	$NO^+$	Catião nitrosónio	0
o2	$O_2$	Oxigénio	0
o2noo	$O_2NOO^-$	Anião peroxonitrato	0
o2nooh	$O_2NOOH$	Ácido peroxonítrico	0
o2r	$O_2^{\bullet-}$	Radical anião superóxido	5 nM
o3	$O_3$	Ozono	0
o3r	$O_3^\bullet$	Radical anião ozonido	0
oh	$OH^-$	Anião hidroxilo	0
ohr	$OH^\bullet$	Radical hidroxilo	0
onoo	$ONOO^-$	Anião peroxinitrito	0
onoco2	$ONOOCO_2^-$	Anião nitrosoperoxocarbonato	0
or	$O^{\bullet-}$	Radical anião óxido	0
tocoh	$TocOH$	Tocoferol	0,67 mM
tocor	$TocO^\bullet$	Radical tocoferoxilo	0

**Tabela 4.** Equações cinéticas das reações e seus parâmetros<sup>2</sup>

Nome	Equação da reação e Lei cinética	Parâmetros
<b>r001</b>	$o2r + no = onoo$ $k001d*no*o2r - k001r*onoo$	$k001d = 6,7 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ $k001r = 1,7 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$
<b>r002<sup>3</sup></b>	$2 \text{ h2o} = \text{h3o} + \text{oh}$ $k002d*\text{h2o}^2 - k002r*\text{h3o}*\text{oh}$	$k002d = 4,2 \times 10^{-7} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ $k002r = 1,3 \times 10^{11} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r003<sup>4</sup></b>	$\text{honoo} + \text{h2o} = \text{onoo} + \text{h3o}$ $k003d*\text{h2o}*\text{honoo} - k003r*\text{h3o}*\text{onoo}$	$k003d = 1,43 \times 10^2 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ $k003r = 5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r004</b>	$\text{honoo} = \text{hno3}$ $r004d*\text{honoo}$	$k004d = 0,94 \text{ s}^{-1}$
<b>r005</b>	$\text{honoo} = \text{ohr} + \text{no2r}$ $k005d*\text{honoo} - k005r*\text{no2r}*\text{ohr}$	$k005d = 0,36 \text{ s}^{-1}$ $k005r = 4,5 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r006</b>	$\text{onoo} + \text{ohr} = \text{o2} + \text{no} + \text{oh}$ $k006d*\text{onoo}*\text{ohr}$	$k006d = 4,8 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r007</b>	$\text{honoo} + \text{ohr} = \text{o2} + \text{no} + \text{h2o}$ $k007d*\text{honoo}*\text{ohr}$	$k007d = 2 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r008</b>	$\text{no2} + \text{ohr} = \text{oh} + \text{no2r}$ $k008d*\text{no2}*\text{ohr}$	$k008d = 5,3 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r009</b>	$2 \text{ ohr} = \text{h2o2}$ $k009d*\text{ohr}^2$	$k009d = 5,5 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r010</b>	$\text{h2o2} + \text{ohr} = \text{hoor} + \text{h2o}$ $k010d*\text{h2o2}*\text{oh}$	$k010d = 2,7 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$

<sup>2</sup>Para as reações reversíveis são apresentados os coeficientes de velocidade no sentido direto (kd) e inverso (kr). Nas leis cinéticas, a concentração de cada espécie é representada pelo símbolo da espécie. As reações 33, 35, 36, 37, 40, 42, 44, 45, 48, 49, 68, 70 e 82 foram retiradas do modelo, conforme referido no texto.

<sup>3</sup>A constante de velocidade para a reação inversa é de  $1,3 \times 10^{11} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ , a partir deste valor, e considerando que para o equilíbrio  $\text{H}_3\text{O}^+ + \text{OH}^- \rightleftharpoons 2\text{H}_2\text{O}$  se tem  $pK_w = 14$  (25 °C), pode calcular-se a constante de velocidade da reação direta:

$$K_c = \frac{k_{dir}}{k_{inv}} = \frac{[\text{H}_2\text{O}]_{eq}^2}{[\text{H}_3\text{O}^+]_{eq}[\text{OH}^-]_{eq}} = \frac{(55,49)^2}{10^{-pK_w}} \Leftrightarrow k_{inv} = \frac{k_{dir} \times 10^{-pK_w}}{(55,49)^2} = 4,2 \times 10^{-7}$$

<sup>4</sup>Assumindo que a reação de desprotonação da água tem uma constante de velocidade de  $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ , a constante de velocidade da reação direta pode ser calculada a partir do valor do  $pK_a$  do ácido. Neste caso,  $pK_a(\text{HONOO}) = 6,8$ , etem-se, para o equilíbrio de desprotonação do ácido,  $\text{HONOO} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{ONOO}^- + \text{H}_3\text{O}^+$ :

$$K_c = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+]_{eq}[\text{ONOO}^-]_{eq}}{[\text{H}_2\text{O}]_{eq}[\text{HOONO}]_{eq}} = \frac{K_a(\text{HONOO})}{[\text{H}_2\text{O}]} = \frac{k_{dir}}{k_{inv}} \Leftrightarrow k_{dir} = \frac{k_{inv} \times 10^{-6,8}}{55,49} = 1,43 \times 10^2 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$$

Nome	Equação da reação e Lei cinética	Parâmetros
<b>r011</b>	$2 \text{ hoor} = \text{h2o2} + \text{o2}$ $k_{011d} \cdot \text{hoor}^2$	$k_{011d} = 8,6 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r012</b>	$\text{hoo} + \text{ohr} = \text{hoor} + \text{oh}$ $k_{012d} \cdot \text{hoo} \cdot \text{ohr}$	$k_{012d} = 7,5 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r013</b>	$2 \text{ o2r} + \text{h2o} = \text{o2} + \text{hoo} + \text{oh}$ $k_{013d} \cdot \text{o2r}^2 \cdot \text{h2o}$	$k_{013d} = 63 \text{ M}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r014</b>	$\text{hoor} + \text{o2r} = \text{hoo} + \text{o2}$ $k_{014d} \cdot \text{hoor} \cdot \text{o2r}$	$k_{014d} = 9,7 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r015</b>	$\text{ohr} + \text{no} = \text{hno2}$ $k_{015d} \cdot \text{ohr} \cdot \text{no}$	$k_{015d} = 1 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r016</b>	$\text{ohr} + \text{no2r} = \text{hno3}$ $k_{016d} \cdot \text{no2r} \cdot \text{ohr}$	$k_{016d} = 4,5 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r017</b>	$\text{hoor} + \text{no} = \text{honoo}$ $k_{017d} \cdot \text{hoor} \cdot \text{no}$	$k_{017d} = 3,2 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r018</b>	$\text{hoor} + \text{no2r} = \text{o2nooh}$ $k_{018d} \cdot \text{hoor} \cdot \text{no2r} - k_{018r} \cdot \text{o2nooh}$	$k_{018d} = 4 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ $k_{018r} = 5 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$
<b>r019</b>	$\text{o2r} + \text{no2r} = \text{o2noo}$ $k_{019d} \cdot \text{o2r} \cdot \text{no2r} - k_{019r} \cdot \text{o2noo}$	$k_{019d} = 4,5 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ $k_{019r} = 1,05 \text{ s}^{-1}$
<b>r020</b>	$\text{h2o2} + \text{h2o} = \text{hoo} + \text{h3o}$ $k_{020d} \cdot \text{h2o2} \cdot \text{h2o} - k_{020r} \cdot \text{hoo} \cdot \text{h3o}$	$k_{020d} = 3,2 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ $k_{020r} = 5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r021</b>	$\text{h3o} + \text{no2} = \text{hno2} + \text{h2o}$ $k_{021d} \cdot \text{h3o} \cdot \text{no2} - k_{021r} \cdot \text{hno2} \cdot \text{h2o}$	$k_{021d} = 5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ $k_{021r} = 7,2 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r022</b>	$\text{h3o} + \text{o2noo} = \text{o2nooh} + \text{h2o}$ $k_{022d} \cdot \text{h3o} \cdot \text{o2noo} - k_{022r} \cdot \text{o2nooh} \cdot \text{h2o}$	$k_{022d} = 5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ $k_{022r} = 1,43 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r023</b>	$\text{no} + \text{no2r} = \text{n2o3}$ $k_{023d} \cdot \text{no} \cdot \text{no2r} - k_{023r} \cdot \text{n2o3}$	$k_{023d} = 1,1 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ $k_{023r} = 8 \times 10^4 \text{ s}^{-1}$
<b>r024</b>	$2 \text{ no2r} = \text{n2o4}$ $k_{024d} \cdot \text{no2r}^2 - k_{024r} \cdot \text{n2o4}$	$k_{024d} = 4,5 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ $k_{024r} = 6,9 \times 10^3 \text{ s}^{-1}$
<b>r025</b>	$\text{h2o} + \text{hoor} = \text{h3o} + \text{o2r}$ $k_{025d} \cdot \text{hoor} \cdot \text{h2o} - k_{025r} \cdot \text{o2r} \cdot \text{h3o}$	$k_{025d} = 1,4 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ $k_{025r} = 5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r026</b>	$\text{o2noo} = \text{o2} + \text{no2}$	$k_{026d} = 1,4 \text{ s}^{-1}$

Nome	Equação da reação e Lei cinética	Parâmetros
	$k_{026d} \cdot o_{2noo}$	
<b>r027</b>	$o_{2nooh} = o_2 + hno_2$ $k_{027d} \cdot o_{2nooh}$	$k_{027d} = 7 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$
<b>r028</b>	$n_{2o3} + h_2o = 2 hno_2$ $k_{028d} \cdot n_{2o3} \cdot h_2o$	$k_{028d} = 2 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r029</b>	$2 hno_2 = h_2o + n_{2o3}$ $k_{024d} \cdot hno_2^2$	$k_{029d} = 13,4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r030</b>	$h_2o + n_{2o4} = hno_2 + hno_3$ $k_{030d} \cdot n_{2o4} \cdot h_2o$	$k_{030d} = 18 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r031</b>	$n_{2o3} + onoo = no_2 + 2 no_{2r}$ $k_{031d} \cdot n_{2o3} \cdot onoo$	$k_{031d} = 3,1 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r032</b>	$o_{2nooh} + hno_2 = 2 hno_3$ $k_{032d} \cdot hno_2 \cdot o_{2nooh}$	$k_{032d} = 12 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r033</b>	$h_2o + ohr = or + h_3o$ $k_{033d} \cdot ohr \cdot h_2o - k_{033r} \cdot h_3o \cdot or$	$k_{033d} = 1,1 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ $k_{033r} = 5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r034</b>	$no + onoo = no_{2r} + no_2$ $k_{034d} \cdot no \cdot onoo$	$k_{034d} = 5 \times 10^2 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r035</b>	$or + h_2o = ohr + oh$ $k_{035d} \cdot or \cdot h_2o - k_{035r} \cdot ohr \cdot oh$	$k_{035d} = 1,7 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ $k_{035r} = 1,3 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r036</b>	$o_2 + or = o_{3r}$ $k_{036d} \cdot or \cdot o_2 - k_{036r} \cdot o_{3r}$	$k_{036d} = 3,8 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ $k_{036r} = 4 \times 10^3 \text{ s}^{-1}$
<b>r037</b>	$or + o_{3r} = 2 o_{2r}$ $k_{037d} \cdot o_{3r} \cdot or$	$k_{037d} = 7 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r038</b>	$o_{3r} + ohr = o_{2r} + hoor$ $k_{038d} \cdot oh \cdot o_{3r}$	$k_{038d} = 8,5 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r039</b>	$ohr + o_{3r} = oh + o_3$ $k_{039d} \cdot ohr \cdot o_{3r}$	$k_{039d} = 2,5 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r040</b>	$h_2o + o_{2r} + or = 2 oh + o_2$ $k_{040d} \cdot or \cdot o_{2r} \cdot h_2o$	$k_{040d} = 1,1 \times 10^7 \text{ M}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r041</b>	$ohr + o_{2r} = o_2 + oh$ $k_{041d} \cdot ohr \cdot o_{2r}$	$k_{041d} = 1,1 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$

Nome	Equação da reação e Lei cinética	Parâmetros
<b>r042</b>	$\text{h2o} + 2 \text{ or} = \text{hoo} + \text{oh}$ $k042d \cdot \text{or}^2 \cdot \text{h2o}$	$k042d = 4,5 \times 10^7 \text{ M}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r043</b>	$\text{h2o} + \text{o2r} + \text{o3r} = 2 \text{ o2} + 2 \text{ oh}$ $k043d \cdot \text{o3r} \cdot \text{o2r} \cdot \text{h2o}$	$k043d = 5 \times 10^4 \text{ M}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r044</b>	$\text{no} + \text{or} = \text{no2}$ $k044d \cdot \text{or} \cdot \text{no}$	$k044d = 2 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r045</b>	$\text{no2r} + \text{or} = \text{no3}$ $k045d \cdot \text{or} \cdot \text{no2}$	$k045d = 2 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r046</b>	$\text{no} + \text{o3r} = \text{o2} + \text{no2}$ $k046d \cdot \text{o3r} \cdot \text{no}$	$k046d = 3,5 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r047</b>	$\text{no2r} + \text{o3r} = \text{o2} + \text{no3}$ $k047d \cdot \text{o3r} \cdot \text{no2}$	$k047d = 3,5 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r048</b>	$\text{hoo} + \text{or} = \text{oh} + \text{o2r}$ $k048d \cdot \text{or} \cdot \text{hoo}$	$k048d = 5,5 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r049</b>	$\text{or} + \text{no2} + \text{h2o} = \text{no2r} + 2 \text{ oh}$ $k049d \cdot \text{or} \cdot \text{no2} \cdot \text{h2o}$	$k049d = 1,2 \times 10^6 \text{ M}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r050</b>	$\text{h3o} + \text{honoo} = 2 \text{ h2o} + \text{no2p}$ $k039d \cdot \text{honoo} \cdot \text{h3o}$	$k050d = 6,22 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r051</b>	$2 \text{ h2o} + \text{no2p} = \text{h3o} + \text{hno3}$ $k040d \cdot \text{no2p} \cdot \text{h2o}^2$	$k051d = 9 \times 10^6 \text{ M}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r052</b>	$\text{h2o} + \text{no2p} + \text{h2o2} = \text{h3o} + \text{o2nooh}$ $k052d \cdot \text{h2o} \cdot \text{no2p} \cdot \text{h2o2}$	$k052d = 3,6 \times 10^6 \text{ M}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r053</b>	$\text{onoo} + \text{co2} = \text{onooco2}$ $k053d \cdot \text{onoo} \cdot \text{co2}$	$k053d = 5,8 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r054</b>	$\text{onooco2} = \text{co2} + \text{no3}$ $k054d \cdot \text{onooco2}$	$k054d = 6,7 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$
<b>r055</b>	$\text{onooco2} = \text{co3r} + \text{no2r}$ $k055d \cdot \text{onooco2}$	$k055d = 3,3 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$
<b>r056</b>	$\text{co3r} + \text{no2r} = \text{co2} + \text{no3}$ $k056d \cdot \text{co3r} \cdot \text{no2r}$	$k056d = 4,6 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r057</b>	$2 \text{ co3r} + \text{h2o} = \text{co2} + \text{h2o2} + \text{co3}$	$k057d = 3,6 \times 10^5 \text{ M}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$



Nome	Equação da reação e Lei cinética	Parâmetros
	$k_{057d} \cdot \text{co3r}^2 \cdot \text{h2o}$	
<b>r058</b>	$\text{co3r} + \text{h2o2} = \text{hco3} + \text{hoor}$ $k_{058d} \cdot \text{co3r} \cdot \text{h2o2}$	$k_{058d} = 9,8 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r059</b>	$\text{h3o} + \text{hco3} = \text{h2co3} + \text{h2o}$ $k_{059d} \cdot \text{h3o} \cdot \text{hco3}$	$k_{059d} = 4,7 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r060</b>	$\text{h2co3} = \text{co2} + \text{h2o}$ $k_{060d} \cdot \text{h2co3} - k_{060r} \cdot \text{co2} \cdot \text{h2o}$	$k_{060d} = 20 \text{ s}^{-1}$ $k_{060r} = 6,75 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r061</b>	$\text{h2co3} + \text{h2o} = \text{h3o} + \text{hco3}$ $k_{061d} \cdot \text{h2co3} \cdot \text{h2o} - k_{061r} \cdot \text{h3o} \cdot \text{hco3}$	$k_{061d} = 3,84 \times 10^2 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ $k_{061r} = 5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r062</b>	$\text{hco3} = \text{co2} + \text{oh}$ $k_{062d} \cdot \text{hco3} - k_{062r} \cdot \text{co2} \cdot \text{oh}$	$k_{062d} = 2 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ $k_{062r} = 8,3 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r063</b>	$\text{hco3} + \text{h2o} = \text{co3} + \text{h3o}$ $k_{063d} \cdot \text{hco3} \cdot \text{h2o} - k_{063r} \cdot \text{co3} \cdot \text{h3o}$	$k_{063d} = 4,3 \times 10^{-2} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ $k_{063r} = 5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r064</b>	$\text{hco3} + \text{oh} = \text{co3} + \text{h2o}$ $k_{064d} \cdot \text{hco3} \cdot \text{oh} - k_{064r} \cdot \text{co3} \cdot \text{h2o}$	$k_{064d} = 6 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ $k_{064r} = 2,3 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r065</b>	$\text{ohr} + \text{hco3} = \text{h2o} + \text{co3r}$ $k_{065d} \cdot \text{ohr} \cdot \text{hco3}$	$k_{065d} = 8,5 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r066</b>	$\text{ohr} + \text{co3} = \text{co3r} + \text{oh}$ $k_{066d} \cdot \text{ohr} \cdot \text{co3}$	$k_{066d} = 3,9 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r067</b>	$\text{co3r} + \text{hoo} = \text{hco3} + \text{o2r}$ $k_{067d} \cdot \text{co3r} \cdot \text{hoo}$	$k_{067d} = 3 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r068</b>	$\text{co3} + \text{h2o} + \text{or} = \text{co3r} + 2 \text{ oh}$ $k_{068d} \cdot \text{co3} \cdot \text{h2o} \cdot \text{or}$	$k_{068d} = 9 \times 10^3 \text{ M}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r069</b>	$\text{h3o} + \text{hno2} = 2 \text{ h2o} + \text{nop}$ $k_{042d} \cdot \text{hno2} \cdot \text{h3o} - k_{042r} \cdot \text{h2o}^2 \cdot \text{nop}$	$k_{069d} = 5,9 \times 10^1 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ $k_{069r} = 2 \times 10^8 \text{ M}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r070</b>	$\text{onoo} = \text{no2r} + \text{or}$ $k_{070d} \cdot \text{onoo} - k_{070r} \cdot \text{no2r} \cdot \text{or}$	$k_{070d} = 1,7 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ $k_{070r} = 3,7 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r071</b>	$\text{o2} + 2 \text{ no} = 2 \text{ no2r}$ $k_{043d} \cdot \text{no}^2 \cdot \text{o2}$	$k_{071d} = 2,2 \times 10^6 \text{ M}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r072</b>	$\text{honoo} + \text{no2r} = \text{no} + \text{o2} + \text{hno2}$ $k_{072d} \cdot \text{honoo} \cdot \text{no2r}$	$k_{072d} = 4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$

Nome	Equação da reação e Lei cinética	Parâmetros
<b>r073</b>	$\text{co3r} + \text{no2} = \text{co3} + \text{no2r}$ $k_{073d} * \text{co3r} * \text{no2}$	$k_{073d} = 1,7 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r074</b>	$\text{h2o} + \text{hno3} = \text{no3} + \text{h3o}$ $k_{074d} * \text{hno3} * \text{h2o} - k_{074r} * \text{h3o} * \text{no3}$	$k_{074d} = 2 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ $k_{074r} = 5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r075</b>	$\text{oh} + \text{nop} = \text{hno2}$ $k_{075d} * \text{no} * \text{oh}$	$k_{075d} = 5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r076</b>	$\text{o2noo} + \text{ohr} = \text{o2} + \text{no2r} + \text{oh}$ $k_{076d} * \text{o2noo} * \text{ohr}$	$k_{076d} = 1 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r077</b>	$\text{ohr} + \text{o2nooh} = \text{h2o} + \text{no2r} + \text{o2}$ $k_{077d} * \text{o2nooh} * \text{ohr}$	$k_{077d} = 1 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r078</b>	$\text{oh} + \text{n2o3} = \text{hno2} + \text{no2}$ $k_{078d} * \text{n2o3} * \text{oh}$	$k_{078d} = 1 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r079</b>	$\text{no2r} + \text{onoo} = \text{no2} + \text{no} + \text{o2}$ $k_{079d} * \text{no2r} * \text{onoo}$	$k_{079d} = 2,5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r080</b>	$\text{co3r} + \text{no} = \text{no2} + \text{co2}$ $k_{080d} * \text{co3r} * \text{no}$	$k_{080d} = 2,9 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r081</b>	$\text{o2r} + \text{co3r} = \text{co3} + \text{o2}$ $k_{081d} * \text{o2r} * \text{co3r}$	$k_{081d} = 6,5 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r082</b>	$\text{or} + \text{no2} = \text{no32}$ $k_{082d} * \text{or} * \text{no2}$	$k_{082d} = 1,8 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r083</b>	$\text{no32} + \text{h2o} = \text{no2r} + 2 \text{ oh}$ $k_{083d} * \text{no32} * \text{h2o} - k_{083r} * \text{no2r} * \text{oh}^2$	$k_{083d} = 1 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ $k_{083r} = 500 \text{ M}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r084</b>	$\text{co3r} + \text{onoo} = \text{co3} + \text{no} + \text{o2}$ $k_{084d} * \text{co3r} * \text{onoo}$	$k_{084d} = 8,65 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r085</b>	$\text{onoo} = \text{no3}$ $k_{085d} * \text{onoo}$	$k_{085d} = 4,8 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$
<b>r086</b>	$\text{no2} + \text{nop} = \text{n2o3}$ $k_{086d} * \text{no} * \text{no2}$	$k_{086d} = 5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r087</b>	$\text{no3} + \text{nop} = \text{n2o4}$ $k_{087d} * \text{nop} * \text{no3}$	$k_{087d} = 5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r088</b>	$\text{ohr} + \text{aschr} = \text{aschr} + \text{h2o}$	$k_{088d} = 8,2 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$

Nome	Equação da reação e Lei cinética	Parâmetros
	$k_{088d} \cdot \text{asch} \cdot \text{ohr}$	
<b>r089</b>	$\text{onoo} + \text{asch} = \text{h2o} + \text{no2r} + \text{aschr}$ $k_{089d} \cdot \text{asch} \cdot \text{onoo}$	$k_{089d} = 235 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r090</b>	$\text{hoor} + \text{asch} = \text{aschr} + \text{h2o}$ $k_{090d} \cdot \text{asch} \cdot \text{hoor}$	$k_{090d} = 1 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r091</b>	$2 \text{ aschr} = \text{dha} + \text{asch}$ $k_{091d} \cdot \text{aschr}^2$	$k_{091d} = 1,4 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r092</b>	$\text{ohr} + \text{lh} = \text{lr}$ $k_{092d} \cdot \text{lh} \cdot \text{ohr}$	$k_{092d} = 5 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r093</b>	$\text{o2} + \text{lr} = \text{loor}$ $k_{093d} \cdot \text{lr} \cdot \text{o2} - k_{093r} \cdot \text{loor}$	$k_{093d} = 3 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ $k_{093r} = 1,5 \times 10^2 \text{ s}^{-1}$
<b>r094</b>	$\text{hoor} + \text{lh} = \text{h2o2} + \text{lr}$ $k_{094d} \cdot \text{lh} \cdot \text{hoor}$	$k_{094d} = 1,2 \times 10^2 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r095</b>	$\text{loor} + \text{lh} = \text{looh} + \text{lr}$ $k_{095d} \cdot \text{lh} \cdot \text{loor}$	$k_{095d} = 1,4 \times 10^1 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r096</b>	$2 \text{ loor} = \text{dha}$ $k_{096d} \cdot \text{loor}^2$	$k_{096d} = 6,6 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r097</b>	$\text{hoor} + \text{looh} = \text{h2o2} + \text{loor}$ $k_{097d} \cdot \text{looh} \cdot \text{hoor}$	$k_{097d} = 2 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r098</b>	$\text{fe2} + \text{looh} = \text{oh} + \text{fe3} + \text{lor}$ $k_{098d} \cdot \text{looh} \cdot \text{fe2}$	$k_{098d} = 3,2 \times 10^2 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r099</b>	$\text{h2o2} + \text{fe2} = \text{ohr} + \text{oh} + \text{fe3}$ $k_{099d} \cdot \text{fe2} \cdot \text{h2o2}$	$k_{099d} = 2 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r100</b>	$\text{tocoh} + \text{loor} = \text{tocor} + \text{looh}$ $k_{100d} \cdot \text{loor} \cdot \text{tocoh} - k_{100r} \cdot \text{looh} \cdot \text{tocor}$	$k_{100d} = 5,8 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ $k_{100r} = 1 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r101</b>	$\text{tocoh} + \text{lor} = \text{loh} + \text{tocor}$ $k_{101d} \cdot \text{lor} \cdot \text{tocoh}$	$k_{101d} = 1 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r102</b>	$\text{o2r} + \text{tocoh} = \text{tocor} + \text{h2o2}$ $k_{102d} \cdot \text{tocoh} \cdot \text{o2r}$	$k_{102d} = 6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r103</b>	$\text{hoor} + \text{tocoh} = \text{tocor} + \text{h2o2}$ $k_{103d} \cdot \text{tocoh} \cdot \text{hoor}$	$k_{103d} = 2 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$

Nome	Equação da reação e Lei cinética	Parâmetros
<b>r104</b>	$\text{tocor} + \text{lh} = \text{tocoh} + \text{lr}$ $k_{104d} \cdot \text{lh} \cdot \text{tocor}$	$k_{104d} = 1 \times 10^{-1} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r105</b>	$\text{o2r} + \text{tocor} = \text{o2} + \text{tocoh}$ $k_{105d} \cdot \text{tocor} \cdot \text{o2r}$	$k_{105d} = 4,5 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r106</b>	$\text{asch} + \text{tocor} = \text{ascr} + \text{tocoh}$ $k_{106d} \cdot \text{asch} \cdot \text{tocor}$	$k_{106d} = 2 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r107</b>	$\text{loor} + \text{asch} = \text{looh} + \text{ascr}$ $k_{107d} \cdot \text{asch} \cdot \text{loor}$	$k_{107d} = 1 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r108</b>	$\text{loor} + \text{ascr} = \text{loo} + \text{asc}$ $k_{108d} \cdot \text{ascr} \cdot \text{loor}$	$k_{108d} = 1 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r109</b>	$\text{fe3} + \text{asch} = \text{ascr} + \text{fe2}$ $k_{109d} \cdot \text{asch} \cdot \text{fe3}$	$k_{109d} = 5 \times 10^2 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r110</b>	$\text{ohr} + \text{asch} = \text{ascr} + \text{h2o}$ $k_{110d} \cdot \text{asch} \cdot \text{ohr}$	$k_{110d} = 1 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r111</b>	$\text{fe3} + \text{ascr} = \text{fe2} + \text{asc}$ $k_{111d} \cdot \text{ascr} \cdot \text{fe3}$	$k_{111d} = 4 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r112</b>	$\text{o2} + \text{asch} = \text{o2r} + \text{ascr}$ $k_{112d} \cdot \text{asch} \cdot \text{o2}$	$k_{112d} = 6 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r113</b>	$\text{o2r} + \text{asch} = \text{ascr} + \text{h2o2}$ $k_{113d} \cdot \text{asch} \cdot \text{o2}$	$k_{113d} = 1 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r114</b>	$\text{hoor} + \text{asch} = \text{ascr} + \text{h2o2}$ $k_{114d} \cdot \text{asch} \cdot \text{hoor}$	$k_{114d} = 1,2 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r115</b>	$\text{o2} + \text{ascr} = \text{o2r} + \text{asc}$ $k_{115d} \cdot \text{ascr} \cdot \text{o2}$	$k_{115d} = 6 \times 10^2 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r116</b>	$\text{o2r} + \text{ascr} = \text{h2o2} + \text{asc}$ $k_{116d} \cdot \text{ascr} \cdot \text{o2r}$	$k_{116d} = 2,6 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r117</b>	$2 \text{ ascr} = \text{asch} + \text{asc}$ $k_{117d} \cdot \text{ascr}^2$	$k_{117d} = 1 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
<b>r118</b>	$\text{hoor} + \text{ascr} = \text{h2o2} + \text{asc}$ $k_{118d} \cdot \text{ascr} \cdot \text{hoor}$	$k_{118d} = 5 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$